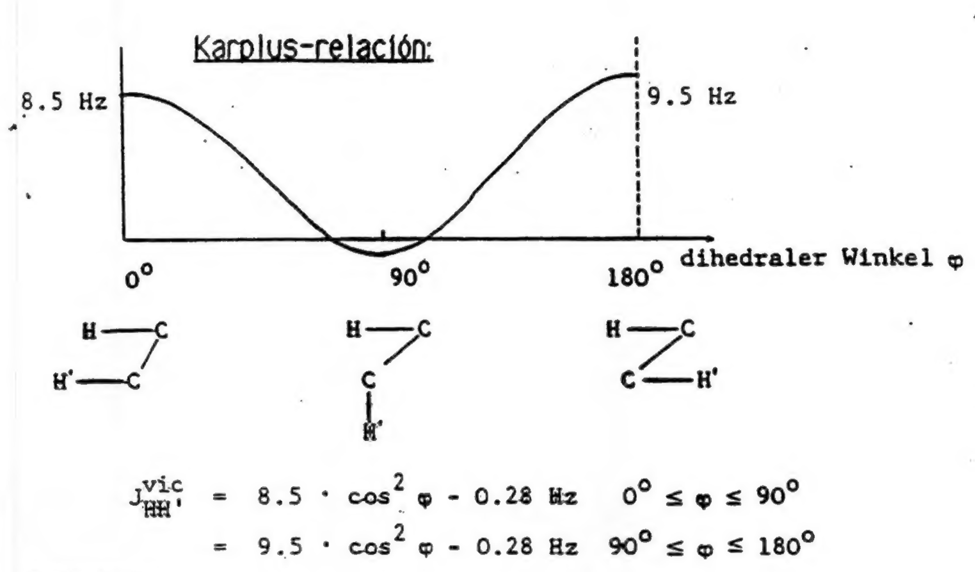
APLICACIONES QUÍMICAS DE LA RMN

Curso teórico de RMN
Pontificia Universidad Católica de Ecuador
Bernardo Celda Muñoz

Dr. Bernardo Celda
Dto. Química Física
Universitat de Valencia
c/ Dr Moliner, 50
46100 - Burjassott (Valencia)
España
bernardo.celda@uv.es

4. Dependencia angular del acoplamiento H-H vecinal

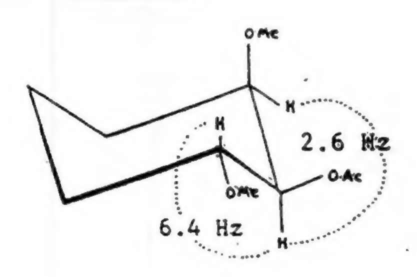
Esta dependencia angular característica tiene suma importancia para la Estereoquímica. Con ayuda de la "Teoría del enlace de Valencia" se calculó la siguiente dependencia de KARPLUS:

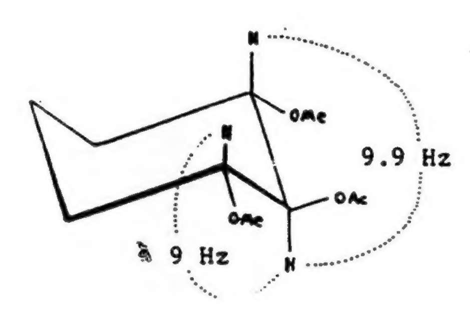


$$J_{HH'}^{vic} = 8.5 \cdot \cos^2 \varphi - 0.28 \text{ Hz} \quad 0^\circ \leq \varphi \leq 90^\circ$$

$$= 9.5 \cdot \cos^2 \varphi - 0.28 \text{ Hz} \quad 90^\circ \leq \varphi \leq 180^\circ$$

Beispiel:





APLICACIONES

- INDUSTRIA
  - Agua
  - Tamaño de partícula { - cosmética / - pintura
  - Contenido de H (petroquímica)
  - Plásticos { - velocidad polimerización / - contenido aditivos

- MEDICINA (BIOMEDICINA)
  - Viscosidad y difusión de la sangre
  - Diagnóstico - biofluidos / - tejidos

- ALIMENTOS
  - Grasa sólida
  - Tamaño de partículas en emulsiones
  - Agua
  - Grasa total
  - aceite en semillas

RMN en la industria ~~tiene debe ser~~ es ~~rápida~~ rápida / precisión / sencilla

RMN EN LA ALIMENTACION

RMN como método analítico → hidratación

* 1950 → 1os resultados de la aplicación de la RMN de componentes de la alimentación
* Uso en industria de alimentación: - Investigación / - Control de calidad
* Carne y huevos
  - Agua adsorbida en productos cárnicos o ingredientes (colágeno, gelatina)
  - Agua " en ingredientes de huevo (albúmina y glicina)
  - Agua
  - Adsorción en proteínas
  - Características dinámicas del agua adsorbida
  - Carne congelada → Parte del agua libre → pasa estructura rígida → disolución más concen-trada → $T_1 \downarrow$
  - Carne → aceite + agua → calibrando → % H_2O (> 1%)
* Pescado
  - No muy utilizada la RMN
  - estudios estructurales de ácidos grasos insaturados de aceites de pescado
  - estudios estructurales de ácidos grasos insaturados de aceites de pescado → H_2O adsorbida en tejidos →
  - Pescado congelado → Estudio, preparación y conservación

M33233 a pH=7.0 con ADP y AMP
1D despues 3 dias acumulacion

expl presat

SAMPLE		SATURATION	
date	Jan 9 1998	sspul	n
solvent	D2O	satpwr	4
file	exp	satfrq	-569.3
ACQUISITION		satdly	2.000
sfrq	399.958	satmode	ynn
tn	H1	composit	n
at	2.048	DEC. & VT	
np	16384	dn	H1
sw	4000.0	dof	-569.3
fb	2200	dm	nnn
bs	4	dmm	c
ss	2	dmf	200
tpwr	55	dpwr	39
pw	21.2	temp	25.0
d1	2.000	PROCESSING	
tof	-569.3	gf	0.353
nt	128	gfs	0.105
ct	128	wtfile	
alock	n	proc	ft
gain	30	fn	32768
FLAGS		math	f
il	n		
in	n	werr	
dp	y	wexp	
hs	nn	wbs	
		wnt	
		DISPLAY	
		sp	315.7
		wp	3178.9
		vs	1200
		sc	0
		wc	180
		hzmm	17.66
		is	634.01
		rfl	2011.6
		rfp	1867.8
		th	4
		ins	100.000
		ai	ph

Fig. 2 Schematic representation for the interaction of H_6L^{6+} with (a) ATP^{4-} and (b) ADP^{3-}

* ACEITE Y PRODUCTOS LÁCTEOS
- Determinación contenido de grasas y/o H_2O
  Precisión ≤1% ~ ≤1 minuto
- NMR → Naturaleza y velocidad disolución de leches en polvo → método de reconstitución
- Determinación concentración I_2
- Control Grado de Insaturación triglicéridos + rápido y preciso que métodos clásicos (Wijs)
- Determinación valor molar medio de triglicéridos en grasas de mantequilla
- Control de la naturaleza de ácidos grasos - (alimentación cabaña vacuna)

* ACEITES Y GRASAS COMESTIBLES, SEMILLAS DE ACEITE
- Control de consistencia de grasas y aceites en función T → RMN más rápido; dilatometría, Análisis térmico diferencial o Calorimetría diferencial de barrido
- Determinación contenido en H_2O en margarinas → diferencias entre sólido y líquido → T_1.
  Distinción entre H_2O y aceite ($T_{1_{H_2O}}$ ~1 s ; $T_{1_{aceite}}$ ~200 ms) → Dopado H_2O iones paramagnéticos
  → $T_{1_{H_2O}}$ ~ 1 ms → También emulsiones aceite H_2O
- Determinominación de contenidos de grasas en semillas ~ minutos + no destrucción muestra

* MAÍZ, CEREALES, ALMIDÓN, AZÚCAR
- Productos alimenticios ricos en carbohidratos RMN usada:
  - contenido H_2O
  - H_2O enlazada
  - Procesos de disolución
- Rápida determinación

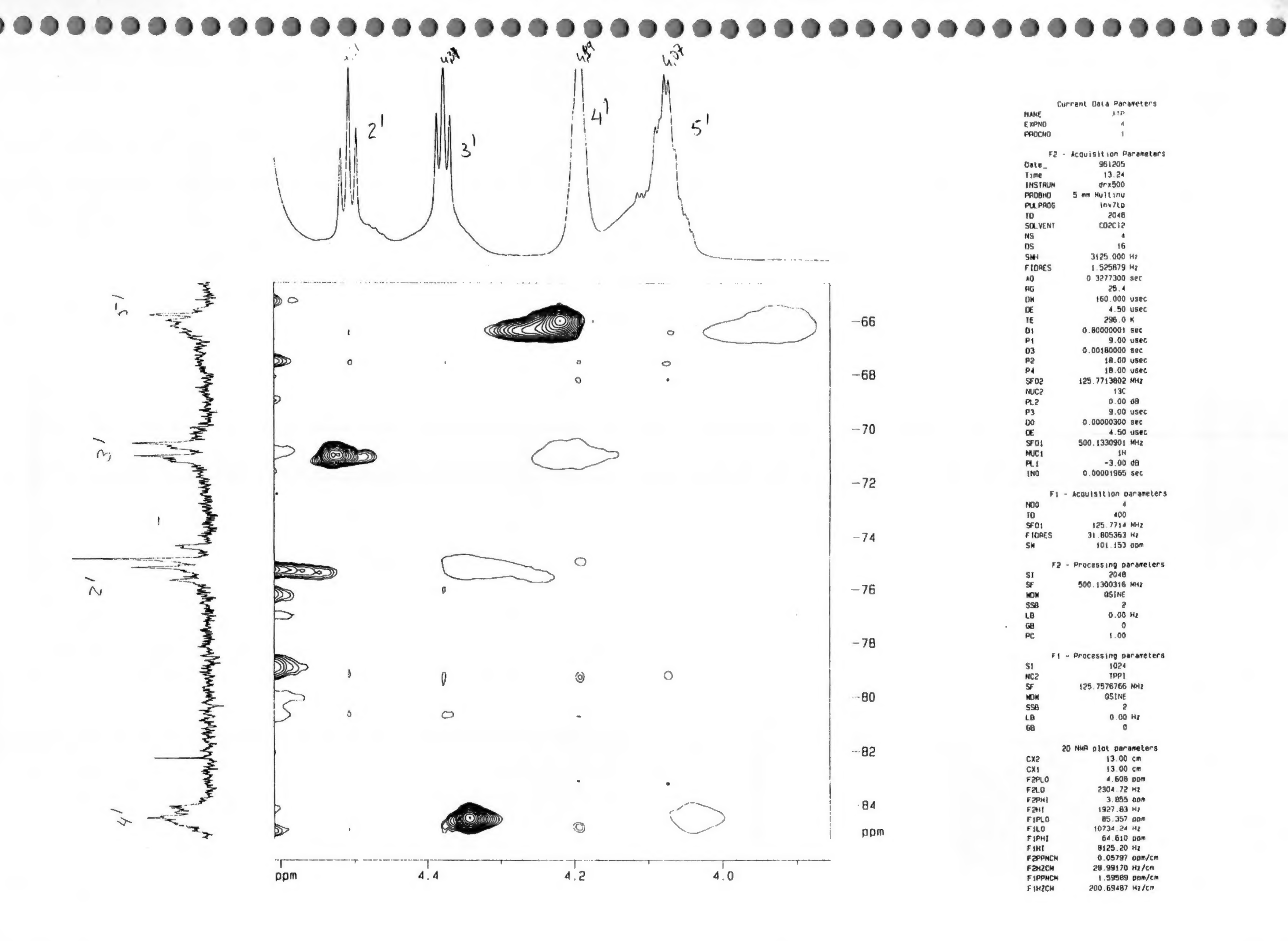
* Cacao, chocolate, café
- Contenido grasas en muestras de cacao y chocolate en pocos minutos ±0,2%
- Determinación contenido H_2O y aceite en café → control proceso tostado

* Otras
- Determinación contenido alcohol en vinos y otras bebidas → integración pico $-CH_3$ → contenido de alcohol 0-80% → ± 3% → 5-10 min

M33233 a pH=7.0 con ADP
DQFCOSY D2O

exp7 dqcosy

SAMPLE		DEC. & VT	
date	Jan 9 1998	dfrq	399.958
solvent	D2O	dn	H1
file	exp	dpwr	20
ACQUISITION		dof	-567.4
sfrq	399.958	dm	nnn
tn	H1	dmm	c
at	0.256	dmf	200
np	2048	dseq	
sw	4000.0	dres	1.0
fb	2200	homo	y
bs	4	temp	25.0
ss	2	PROCESSING	
tpwr	63	sb	-0.055
pw	10.1	sbs	-0.026
d1	1.500	wtfile	
presat	1.500	proc	ft
tof	-567.4	fn	4096
nt	64	math	f
ct	64		
alock	n	werr	
gain	30	wexp	
FLAGS		wbs	
il	n	wnt	
in	n	2D PROCESSING	
dp	y	sb1	0.014
hs	yn	sbs1	-0.000
sspul	y	wtfile1	
2D ACQUISITION		proc1	ft
sw1	8000.0	fn1	1024
ni	256		
phase	3		
DISPLAY			
sp	1397.3		
wp	975.1		
vs	3269		
sc	0		
wc	130		
hzmm	30.77		
is	634.01		
rfl	2442.2		
rfp	2299.8		
th	2		



4.37
4.19
4.07
2'
3'
4'
5'
Current Data Parameters
NAME ATP
EXPNO 4
PROCNO 1
F2 - Acquisition Parameters
Date_ 961205
Time 13.24
INSTRUM drx500
PROBHD 5 mm Multinu
PULPROG inv7tp
TD 2048
SOLVENT CD2Cl2
NS 4
DS 16
SWH 3125.000 Hz
FIDRES 1.525879 Hz
AQ 0.3277300 sec
RG 25.4
DW 160.000 usec
DE 4.50 usec
TE 296.0 K
D1 0.80000001 sec
P1 9.00 usec
D3 0.00180000 sec
P2 18.00 usec
P4 18.00 usec
SFO2 125.7713802 MHz
NUC2 13C
PL2 0.00 dB
P3 9.00 usec
D0 0.00000300 sec
DE 4.50 usec
SFO1 500.1330901 MHz
NUC1 1H
PL1 -3.00 dB
IN0 0.00001965 sec
F1 - Acquisition parameters
ND0 4
TD 400
SFO1 125.7714 MHz
FIDRES 31.805363 Hz
SW 101.153 ppm
F2 - Processing parameters
SI 2048
SF 500.1300316 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0
PC 1.00
F1 - Processing parameters
SI 1024
MC2 TPPI
SF 125.7576766 MHz
WDW QSINE
SSB 2
LB 0.00 Hz
GB 0
2D NMR plot parameters
CX2 13.00 cm
CX1 13.00 cm
F2PLO 4.608 ppm
F2LO 2304.72 Hz
F2PHI 3.855 ppm
F2HI 1927.83 Hz
F1PLO 85.357 ppm
F1LO 10734.24 Hz
F1PHI 64.610 ppm
F1HI 8125.20 Hz
F2PPMCM 0.05797 ppm/cm
F2HZCM 28.99170 Hz/cm
F1PPMCM 1.59589 ppm/cm
F1HZCM 200.69487 Hz/cm
-66
-68
-70
-72
-74
-76
-78
-80
-82
-84
ppm
4.4
4.2
4.0
ppm

M33233 con ADP a pH=7.0
ROESY 150 ms D2O

exp5 roesy

SAMPLE		2D ACQUISITION	
date	Jan 9 1998	sw1	8000.0
temp	25.0	ni	256
solvent	D2O	phase	3
PULSE SEQUENCE		PROCESSING	
d1	1.5	fn	4096
p1	10.1	gf	0.055
p1lvl	63	gfs	0.002
pw	3.4	2D PROCESSING	
mix	0.150	fn1	1024
ratio	9.000	gf1	0.013
rocomp	n	gfs1	0.001
sspul	y	DISPLAY	
hs	nn	sp	171.3
satmode	y	wp	3366.9
satpwr	8	vs	39395
satfrq	-567.4	sc	0
presat	1.2	wc	150
OBSERVE		axis	pp
tn	H1	rfl	3416.9
sfrq	399.958	rfp	3271.7
tof	-567.4	lp	6.4
pw90	10.3	rp	-45.1
[illegible]	63	ai	ph

F1 (ppm)

F2 (ppm)

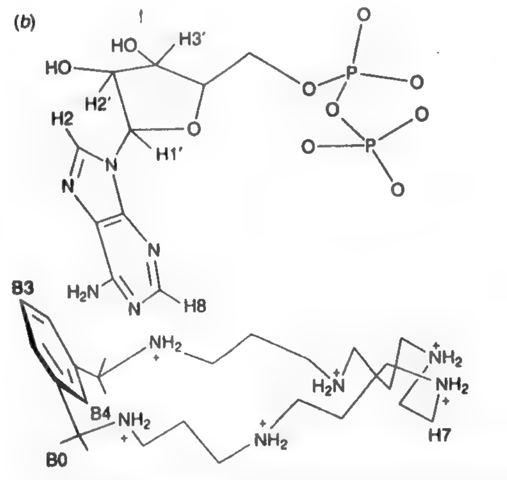


Fig. 2 Schematic representation for the interaction of H_6L^{6+} with (a) ATP^{4-} and (b) ADP^{3-}

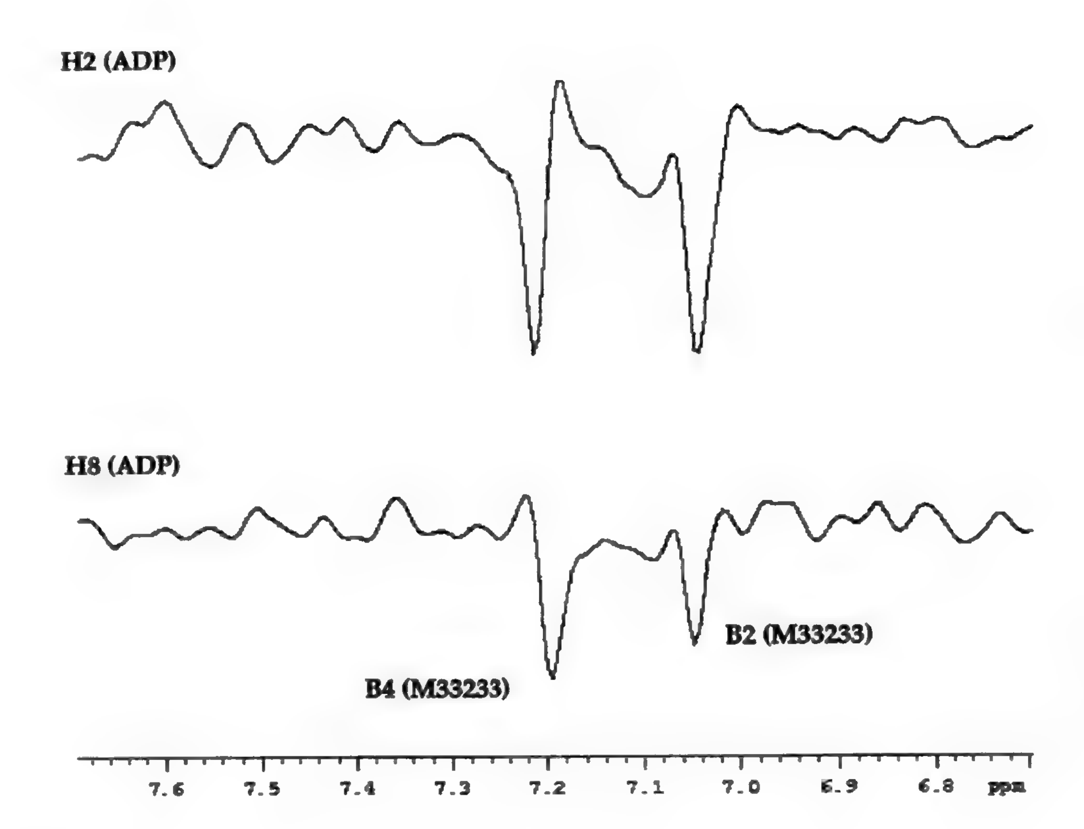


Figure 5

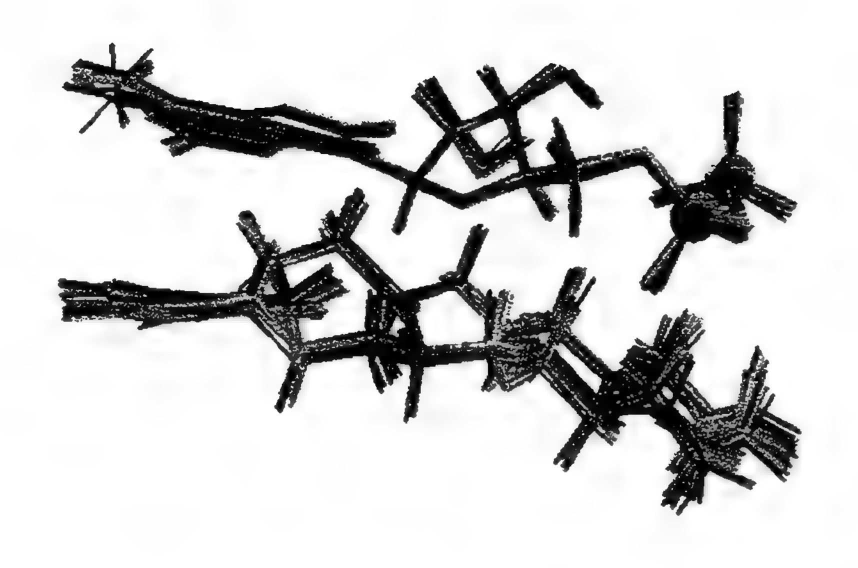




Figure 6

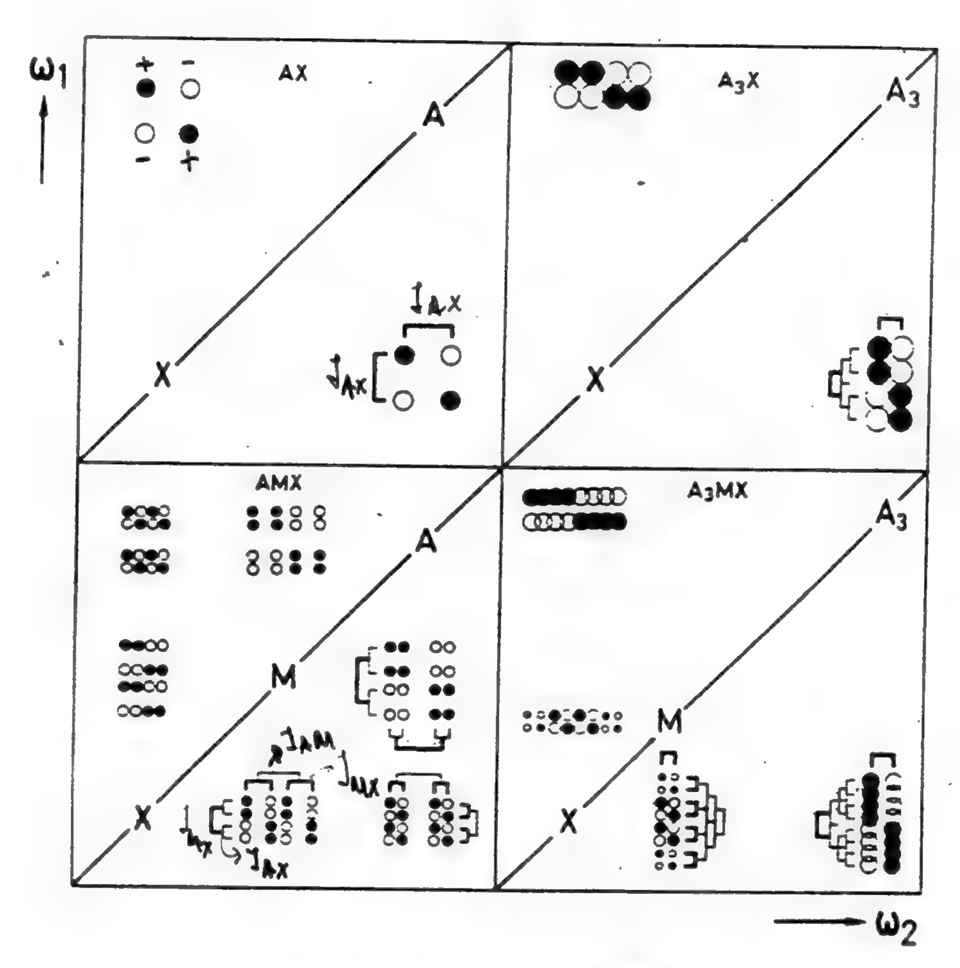
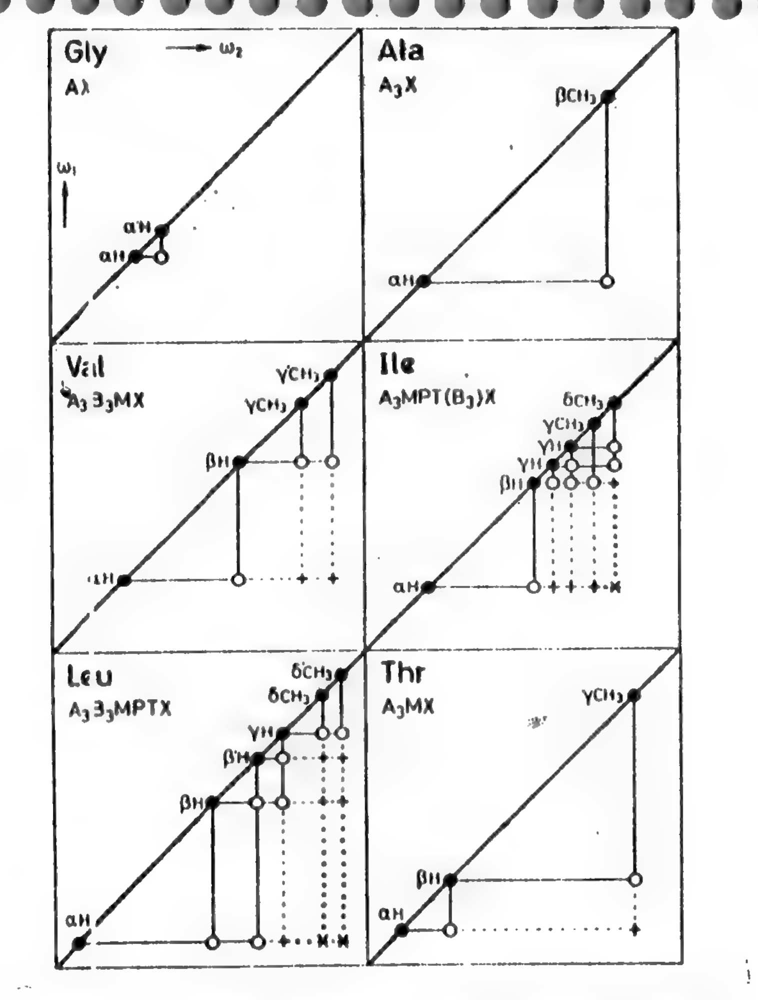


Figure 5.28. COSY cross peak multiplet structures for the ^1H spin systems AX, AMX, A_3X, and A_3MX. The letters on the diagonal indicate the chemical shifts for the different groups of protons. Filled circles represent positive signals, open circles negative signals, and the area of the circles represents the peak intensity. In the lower right of each spectrum, active and passive couplings are indicated with thick and thin lines, respectively (adapted from Neuhaus et al., 1985).

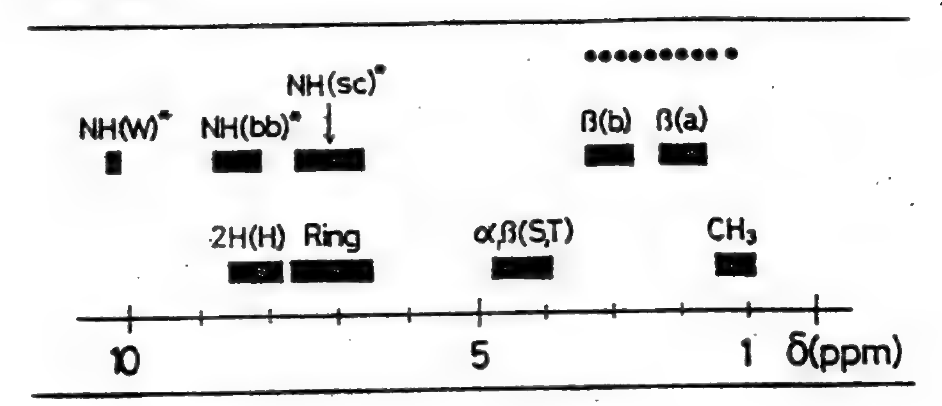


Diagramas de conectividades en COSY, RELAYED-COSY y DOUBLE-RELAYED-COSY para los protones no lábiles en los residuos aminoácidos comunes. Cada cuadrado representa el espectro de un aminoácido o grupo de ellos. Círculos llenos picos en la diagonal, círculos vacíos picos COSY, cruces picos de RELAYED-COSY y aspas picos de DOUBLE-RELAYED-COSY.

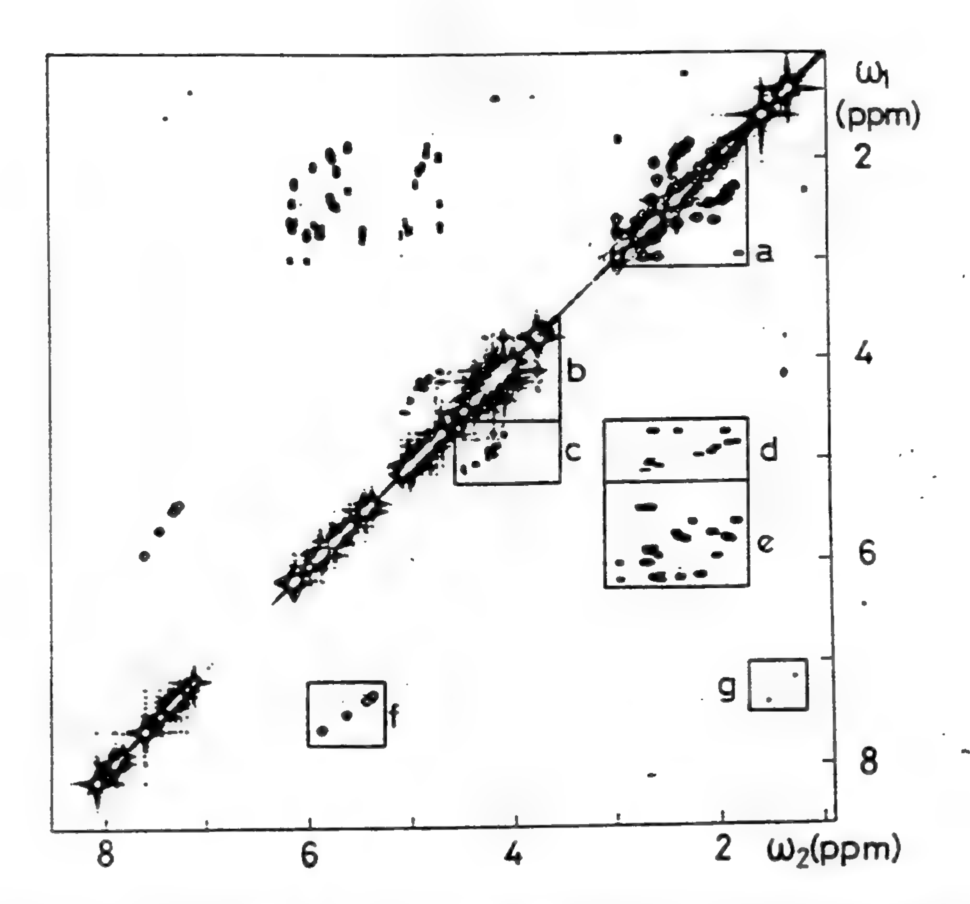
Table 2.2 (continued)

Glu, E	Gln, Q	Met, M	Pro, P[d]
AM(PT)X	AM(PT)X	AM(PT)X+A_3	$A_2(T_2)MPX^c$
His, H	Phe, F	Tyr, Y	Trp, W
AMX + AX^e	AMX + AA'XX'M	AMX + AA'XX'	AMX + A(X)MP + A

Table 2.4



Code	δ (ppm)	Comments
CH_3	0.9–1.4	
β(a)	1.6–2.3	βH of V,I,L,E,Q,M,P,R,K
β(b)	2.7–3.3	βH of C,D,N,F,Y,H,W
••••	1.2–3.3	Other Aliphatic CH
α,β(S,T)	3.9–4.8	All αH, βH of S and T
Ring	6.5–7.7	Aromatic CH of F,Y,W; 4H of H
2H(H)	7.7–8.6	2H of H in the pH range 1-11
NH(sc)*	6.6–7.6	Side Chain NH of N,Q,K,R
NH(bb)*	8.1–8.8	Backbone NH
NH(W)*	10.2	Indole NH of W



. ¹H COSY spectrum of the DNA duplex d(CGCGAATTCGCG)$_2$ (0.002 *M* in duplex, 0.01 *M* phosphate, D_2O, pD 7.0, 37°C; 500 MHz; absolute value) (from Hare et al., 1983). Below the diagonal, solid lines define the regions a–g, which contain cross peaks between distinct types of protons (see text).

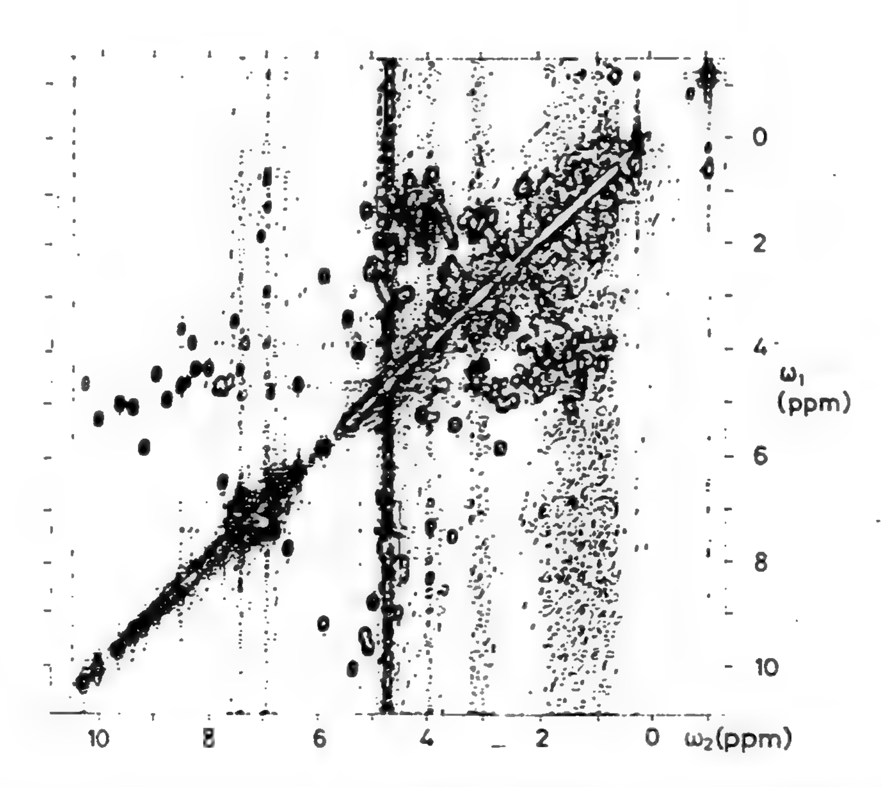


Figure 5.13. t_1 noise in the ¹H COSY spectrum of inhibitor *K* (same sample and conditions as in Fig. 5.8, except that the present spectrum was not symmetrized) (from Baumann et al., 1981).

Base

χ

ν_0 1'C ν_1

4'O 2'C

ν_4 ν_2

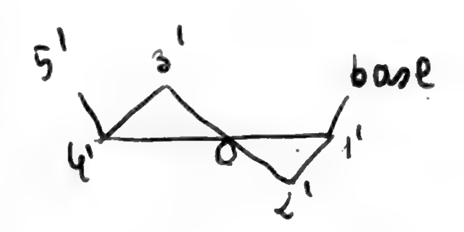
$3'O_{i-1}$ — P_i — 5'O — 5'C — 4'C — 3'C — $3'O_i$ — P_{i+1}

α β γ $\delta/3$ ε ζ

5' ⟶ 3'

P → ángulo de pseudorotación ≡ $\nu_0 - \nu_4$

- Tipos básicos de conformaciones de los anillos de la furanosa



5'C 2' base

4' O 1'

3'

(3'endo; 2'-exo)

N-confórmero

(A-ADN)

$P \simeq 0° - 36°$

(2'endo - 3'exo)

S-confórmero

(B-ADN)

$P \simeq 140° - 180°$

Table 2.5

β-D-Ribose
XWTPMA

2-Deoxy-β-D-Ribose
XAMWTNP

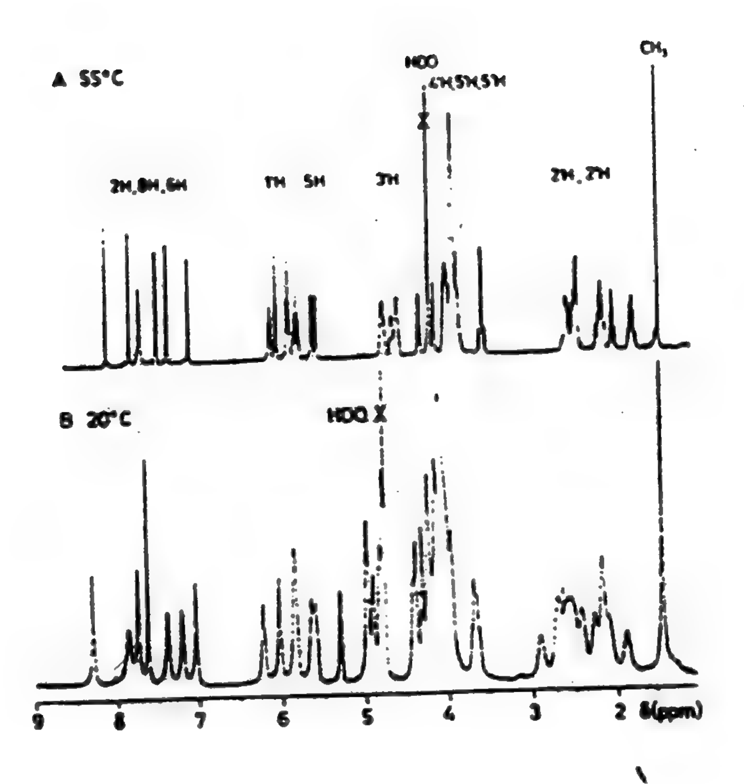
Cytosine, C
AX

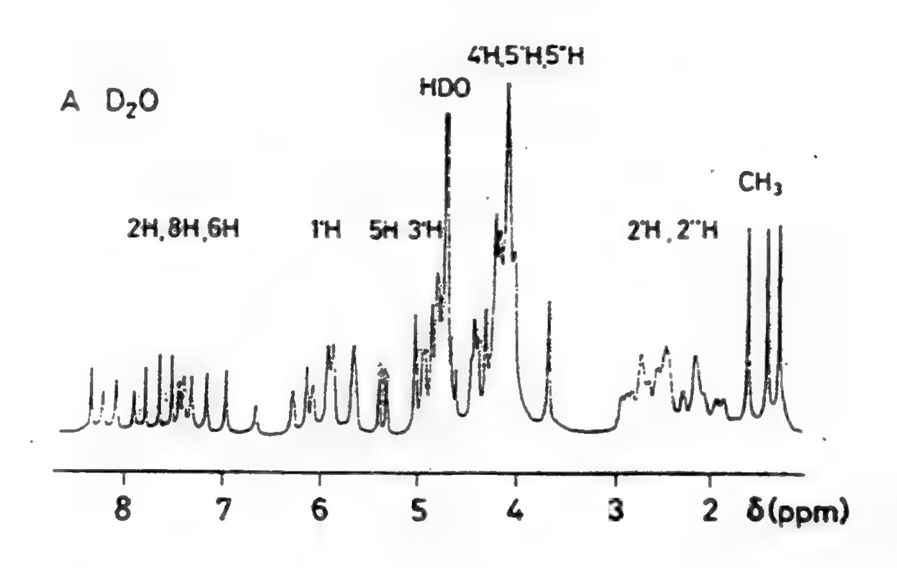
Thymine, T
A_3X

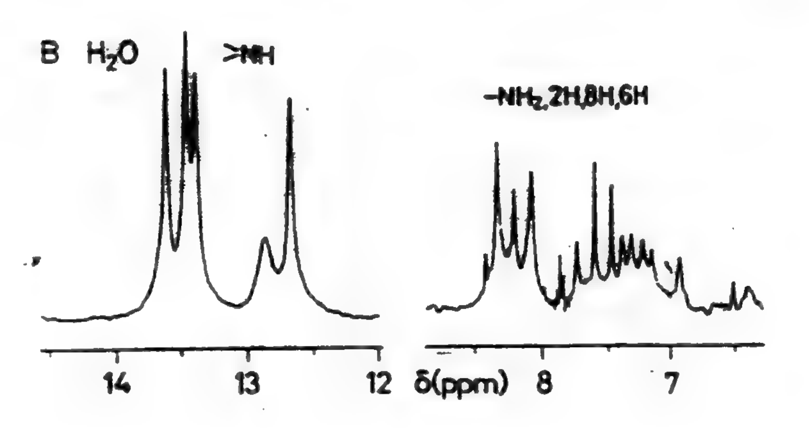
Uracil, U
AX

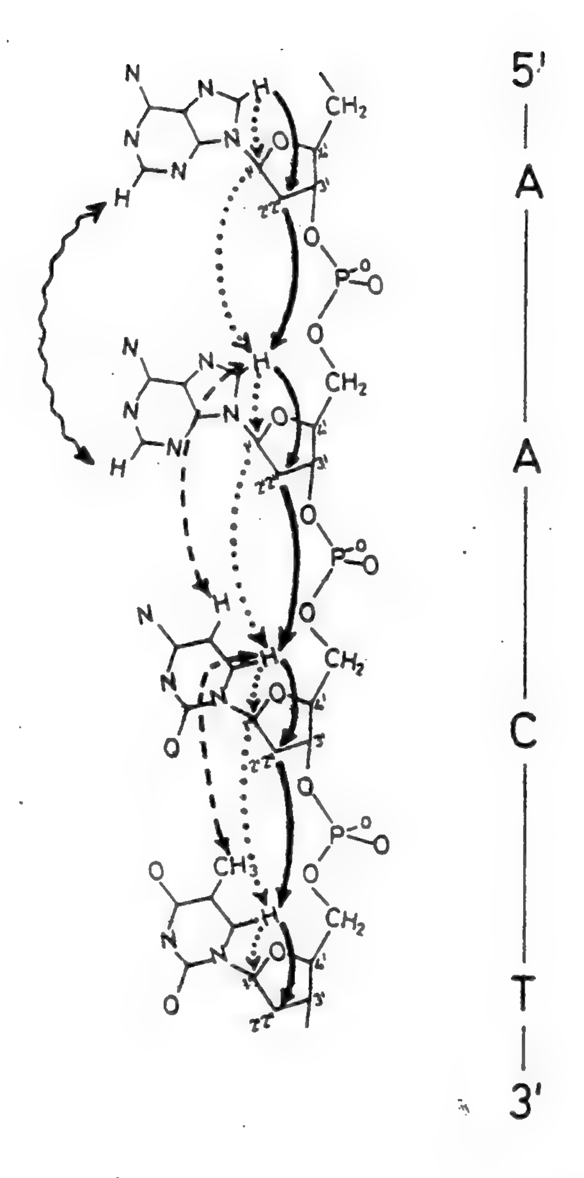
Adenine, A
A + A

Guanine, G
A


A 55°C
HDO
4'H,5'H,5''H
CH3
2H,8H,6H
1'H 5H
3'H
2'H,2''H
B 20°C
HDO
9
8
7
6
5
4
3
2
δ(ppm)


A D2O
HDO
4'H,5'H,5''H
CH3
2H,8H,6H
1'H
5H 3'H
2'H,2''H
8
7
6
5
4
3
2
δ(ppm)


B H2O
>NH
-NH2,2H,8H,6H
14
13
12
δ(ppm)
8
7



Representación de las distancias cortas $^1H-^1H$ $d_i(6,8;2')$ y $d_s(2'';6,8)$ (flechas continuas) y $d_s(1';6,8)$ (flechas punteadas), $d_s(6,8;5,M)$ (flechas discontinuas), $d_s(2;2)$ (flechas ondulantes) que son usadas para la aignación secuencial de los protones no labiles en B-ADN.

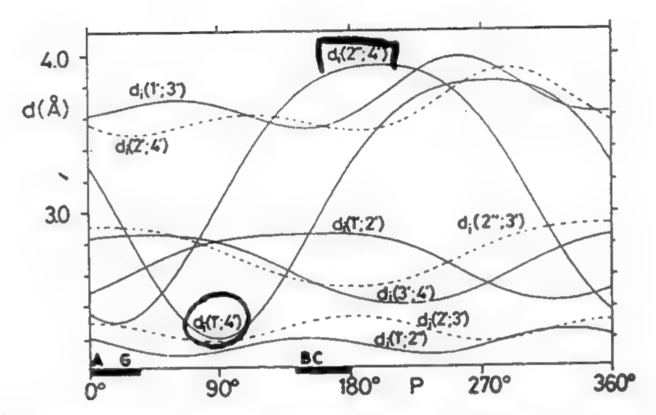


Figure 11.4. Intranucleotide distances between different hydrogen atoms in the deoxyribose ring versus the pseudorotation phase angle *P*. The heavy lines below the *P* axis indicate the regions of the preferred ring puckers 3'C-*endo* near 20° and 2'C-*endo* near 160°. A, B, C, and G identify the *P*-values for A-DNA, B-DNA, and the nucleotides C and G in the Z form of d(CGCGCG)$_2$. This computation and those in the following Figures 11.5–11.7 used the atom coordinates in a standard B-DNA double helix (Arnott and Chandrasekaran, private communication, 1984).

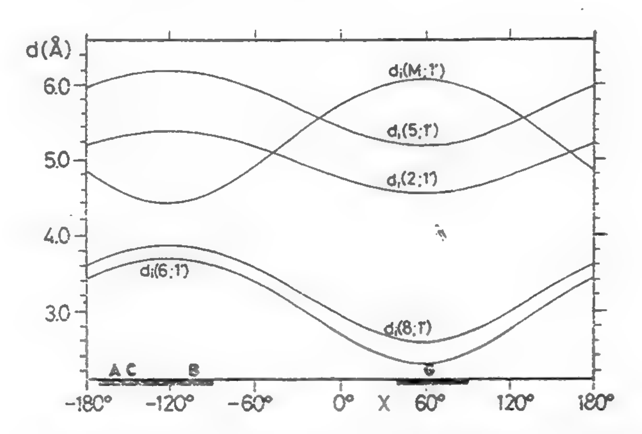


Figure 11.5. Intranucleotide distances between base protons and 1'H versus the torsion angle χ. Preferred χ regions from −90 to −170° (anti) and 40 to 90° (syn) are indicated with heavy lines at the bottom. A, B, C, and G identify the χ-values for A-DNA, B-DNA, and the nucleotides C and G in the Z form of d(CGCGCG)$_2$.

Wüthrich (1986)

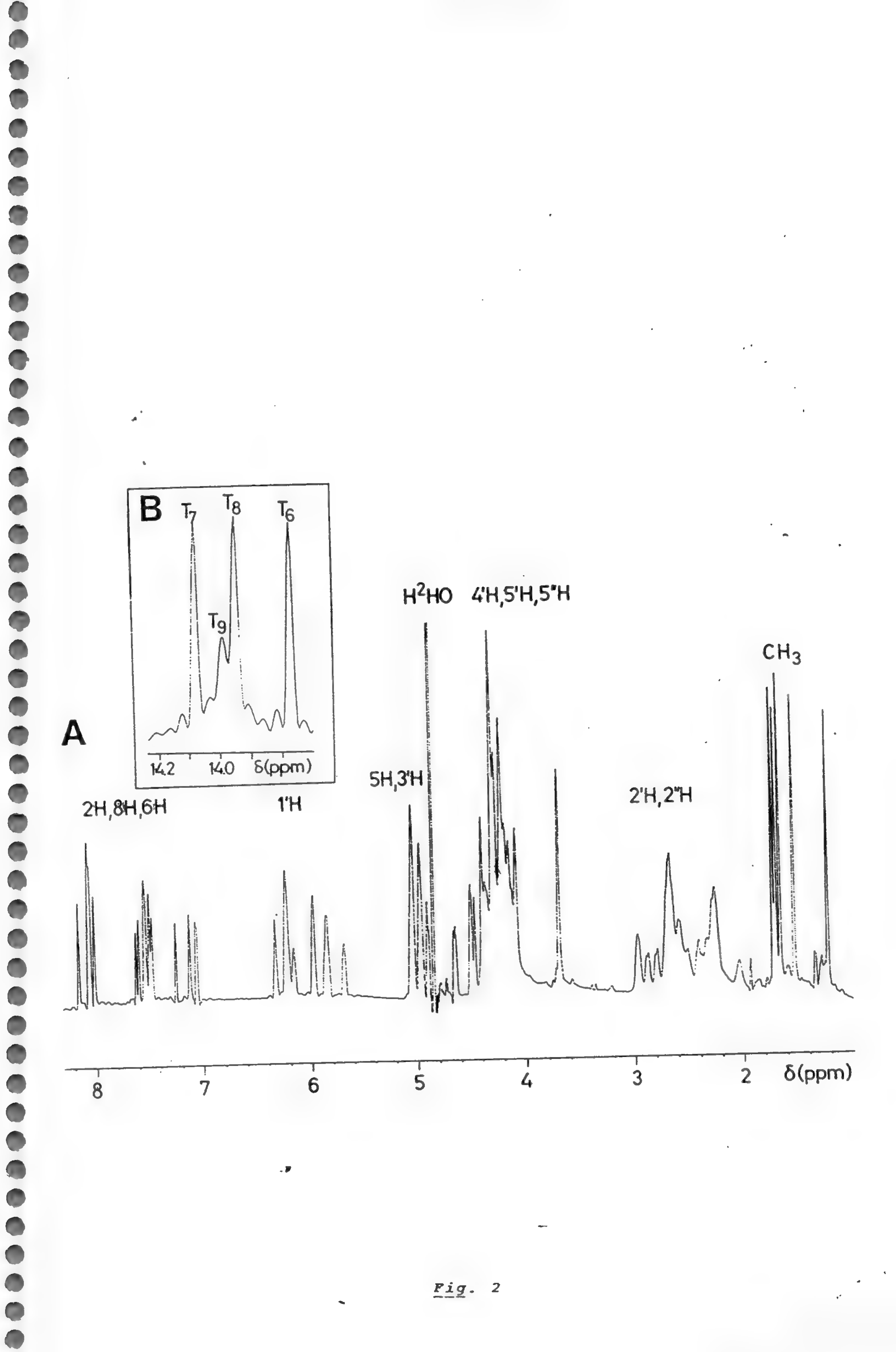
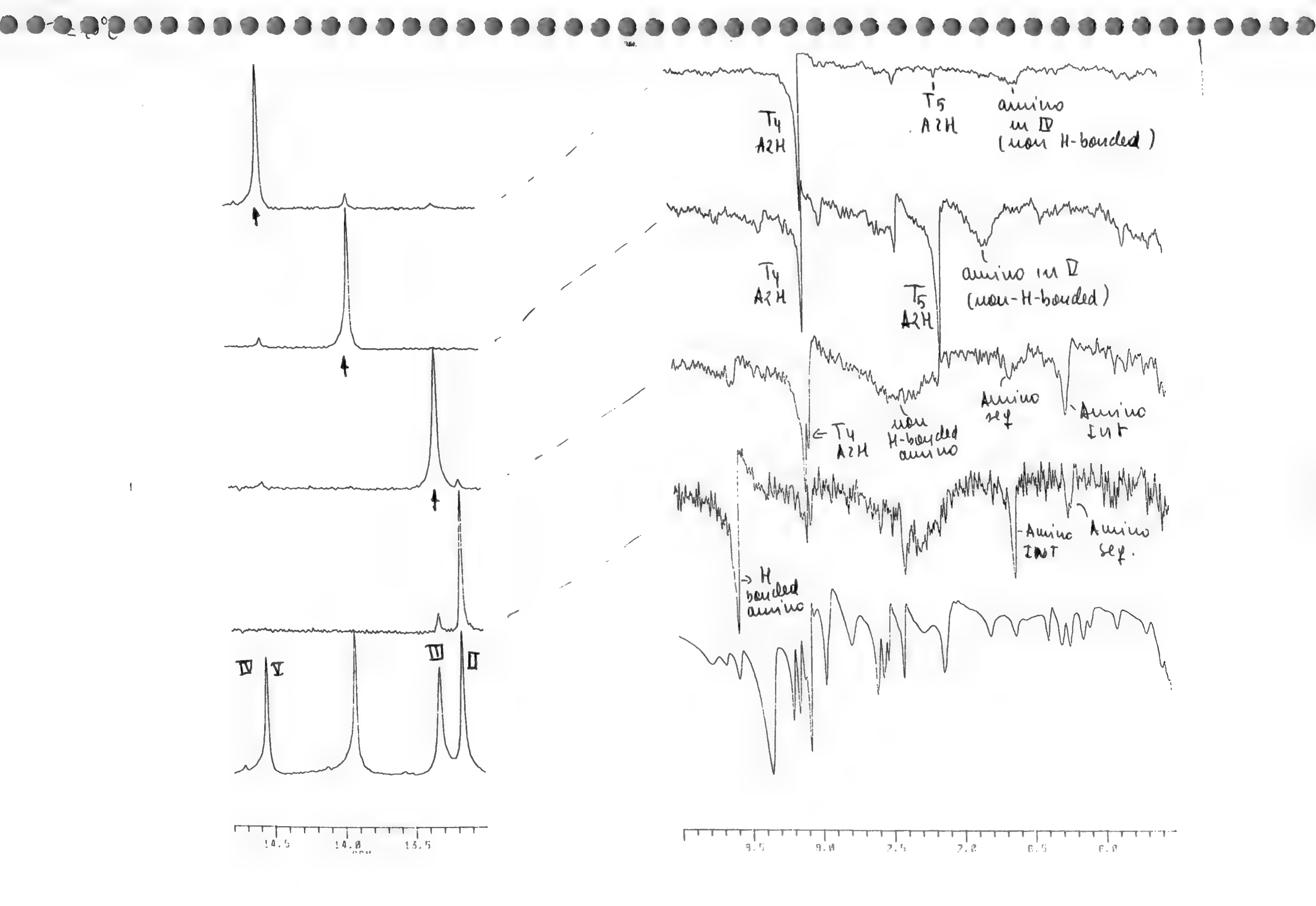
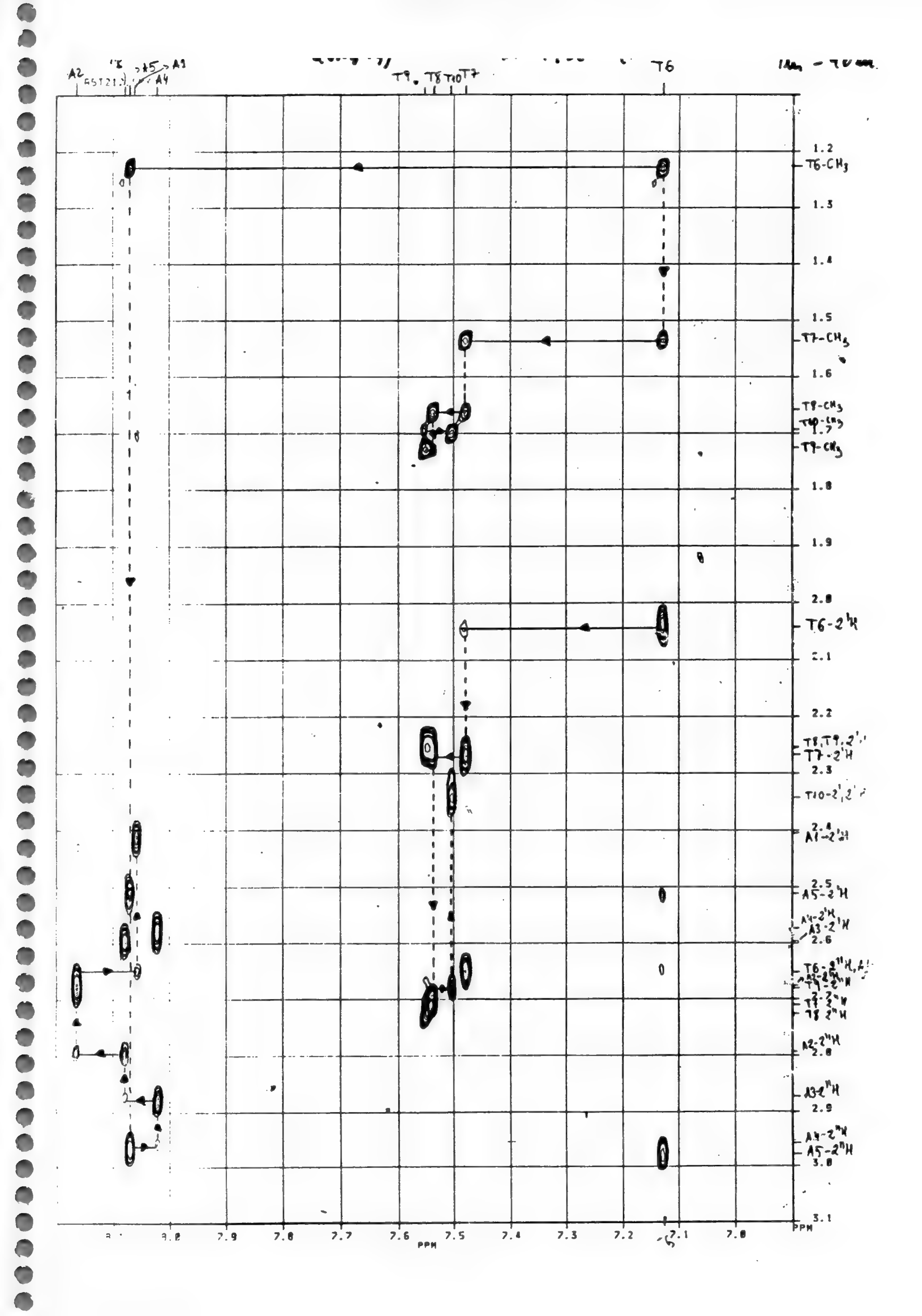
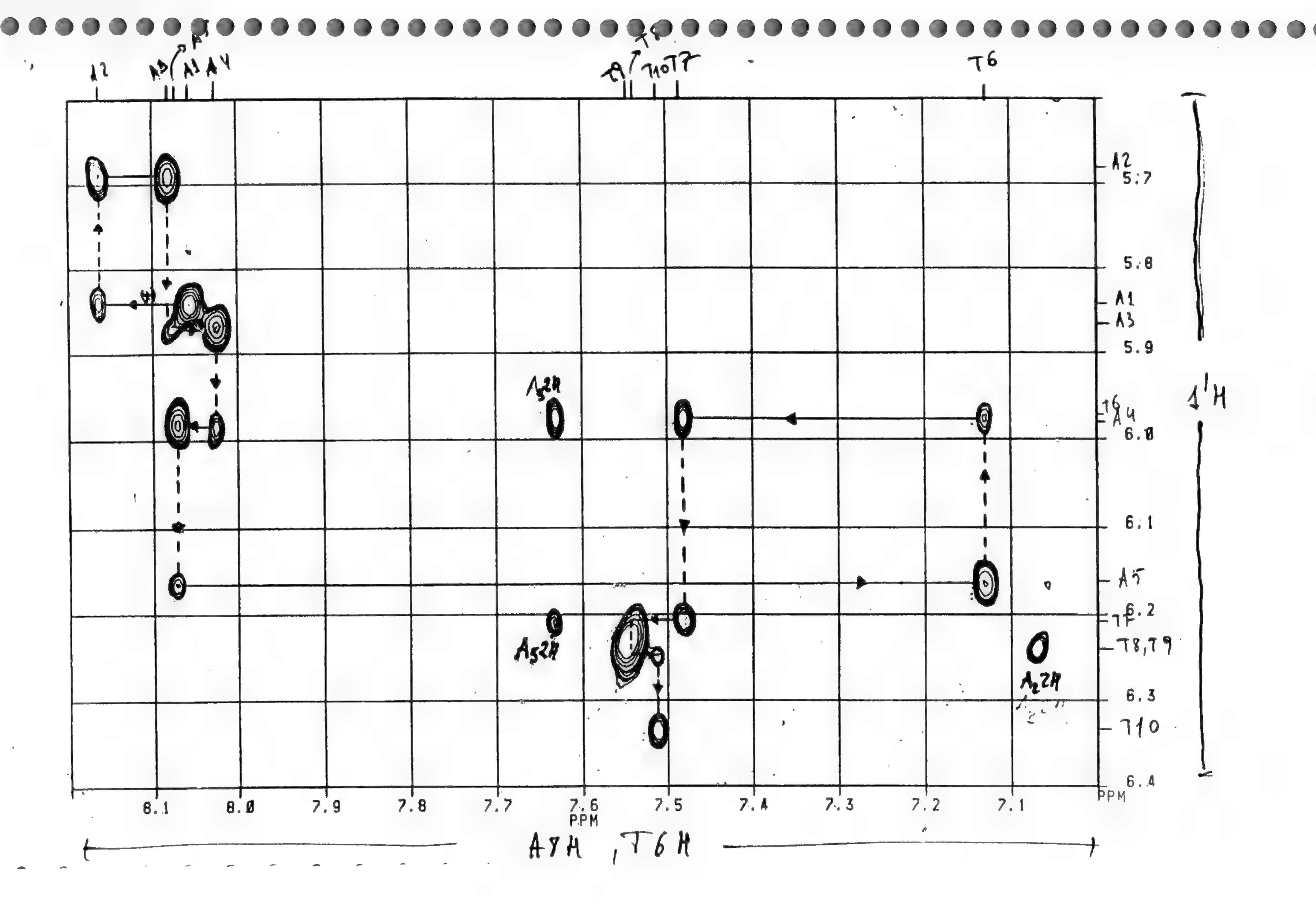

B
T_7
T_8
T_6
T_9
14.2
14.0
δ(ppm)
A
2H,8H,6H
1'H
5H,3'H
H^2HO
4'H,5'H,5"H
2'H,2"H
CH_3
8
7
6
5
4
3
2
δ(ppm)

Fig. 2

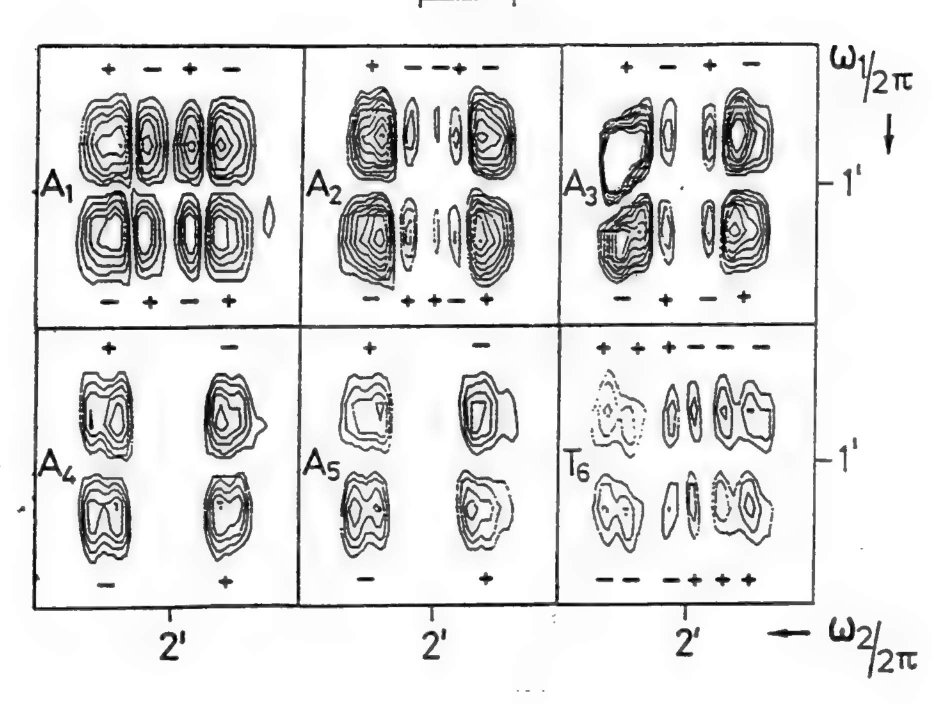


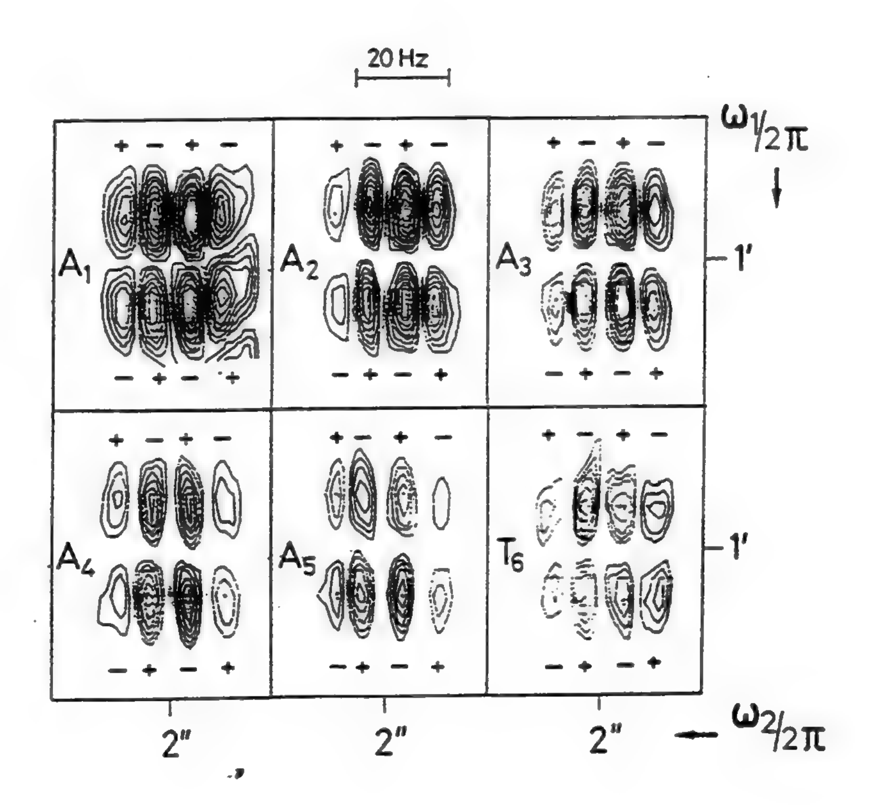
T4
A2H
T5
A2H
amino
in IV
(non H-bonded)
T4
A2H
amino in V
(non-H-bonded)
T5
A2H
← T4
A2H
non
H-bonded
amino
Amino
sep
Amino
INT
→ H
bonded
amino
Amino
INT
Amino
sep.
IV
V
III
II
14.5
14.0
13.5
8.5
8.0
7.5
7.0
6.5
6.0

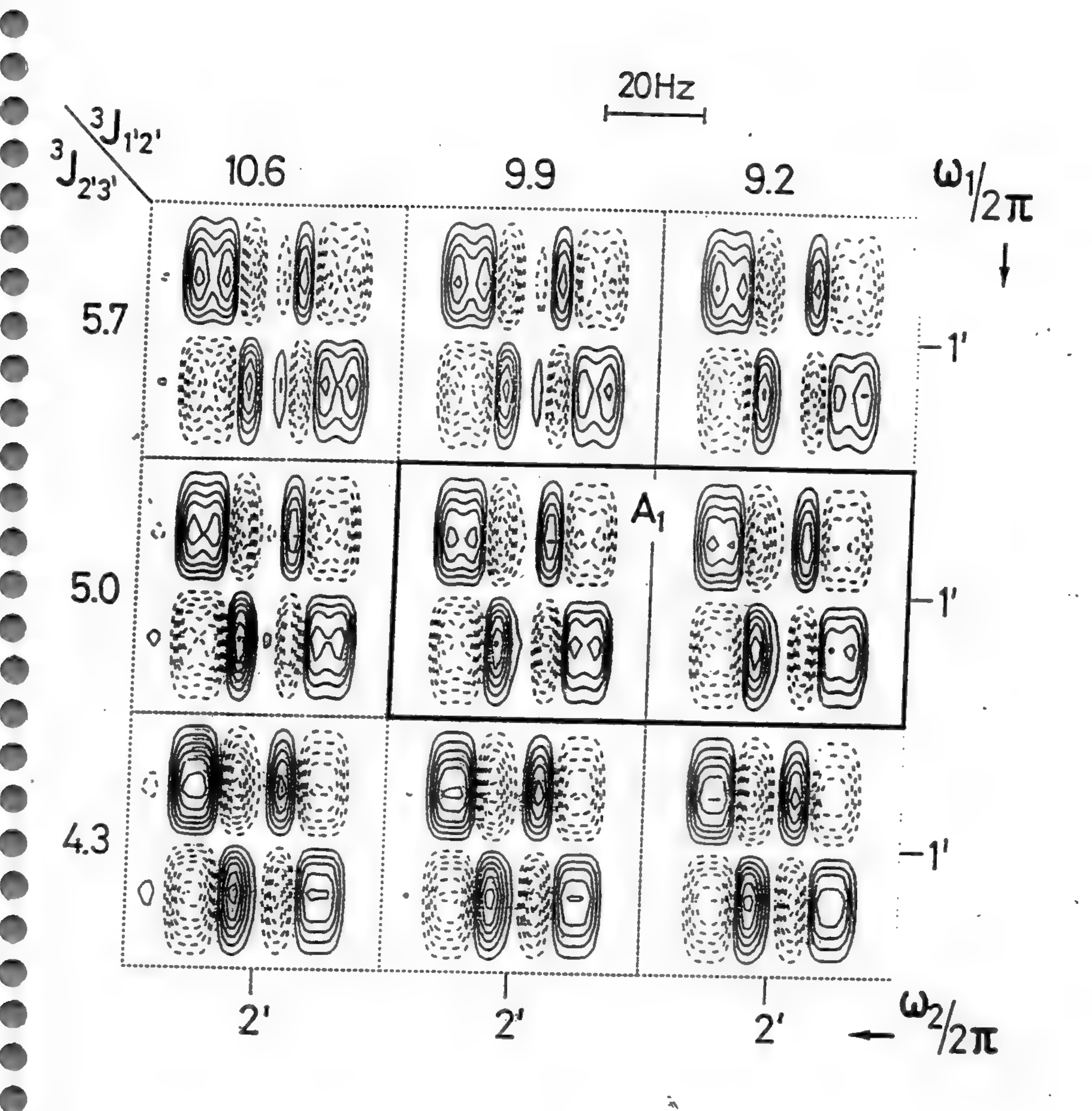




A2
A3
A1
A4
T6
T7
A2 5.7
5.8
A1
A3
5.9
T6
A4
6.0
6.1
A5
6.2
T8,T9
6.3
T10
6.4
PPM
A5 2H
A2 2H
8.1
8.0
7.9
7.8
7.7
7.6
PPM
7.5
7.4
7.3
7.2
7.1
1'H
A8H , T6H


20 Hz
ω1/2π
A1
A2
A3
A4
A5
T6
1'
2'
ω2/2π


20 Hz
ω1/2π
A1
A2
A3
A4
A5
T6
1'
2"
ω2/2π



20Hz
$^3J_{1'2'}$
$^3J_{2'3'}$
10.6
9.9
9.2
$\omega_1/2\pi$
5.7
5.0
4.3
A1
1'
1'
1'
2'
2'
2'
$\omega_2/2\pi$

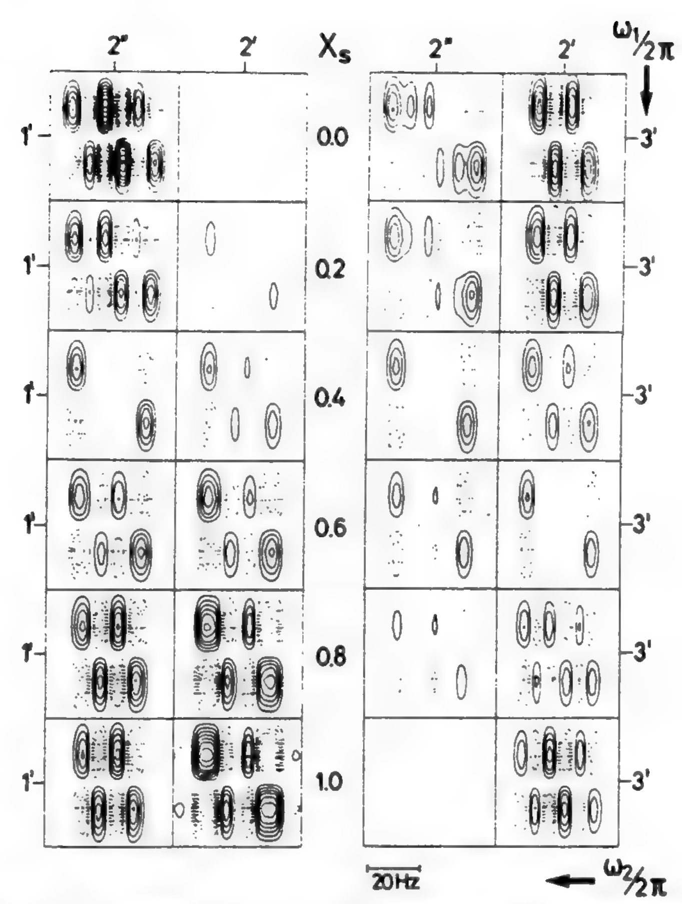
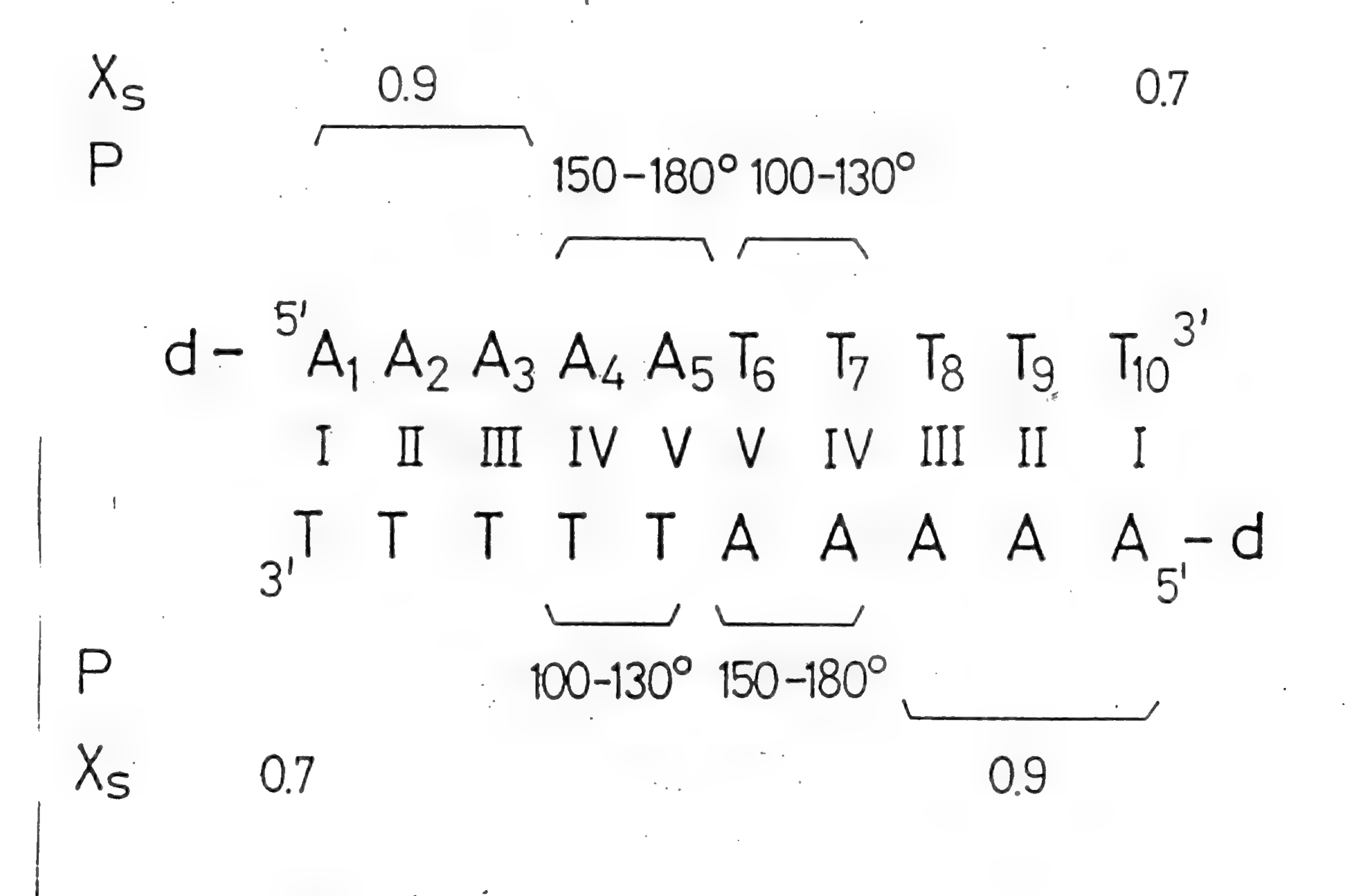


FIGURE 10: Simulated 2QF-COSY cross-peaks for dynamic states of a deoxyribose characterized by rapid interconversion between the two conformations with $P = 9°$ (N) and $P = 171°$ (S), for which the J values were taken from Rinkel and Altona (1987). The relative population of the S conformer, X_S, is given in the figure, and $X_N = 1 - X_S$. The line width, $^2J_{2'2''}$, and $^3J_{3'P}$ are the same as in Figure 9 and effective values of the other coupling constants (Hz) are shown below.

X_S	$^3J_{1'2'}$	$^3J_{1'2''}$	$^3J_{2'3'}$	$^3J_{2''3'}$	$^3J_{3'4'}$
0.0	1.5	7.7	6.5	10.3	8.5
0.2	3.3	7.2	6.2	8.6	7.0
0.4	5.0	6.7	5.8	6.8	5.5
0.6	6.8	6.1	5.5	5.1	4.0
0.8	8.5	5.6	5.1	3.3	2.5
1.0	10.3	5.1	4.8	1.6	1.0


Xs
0.9
0.7
P
150-180° 100-130°
d- 5' A1 A2 A3 A4 A5 T6 T7 T8 T9 T10 3'
I II III IV V V IV III II I
3' T T T T T A A A A A 5' -d
P
100-130° 150-180°
Xs
0.7
0.9

a5t5augdis.cor
a5t5taugdis.cor
} rms ≈ 0,8

a5t5augdis.car

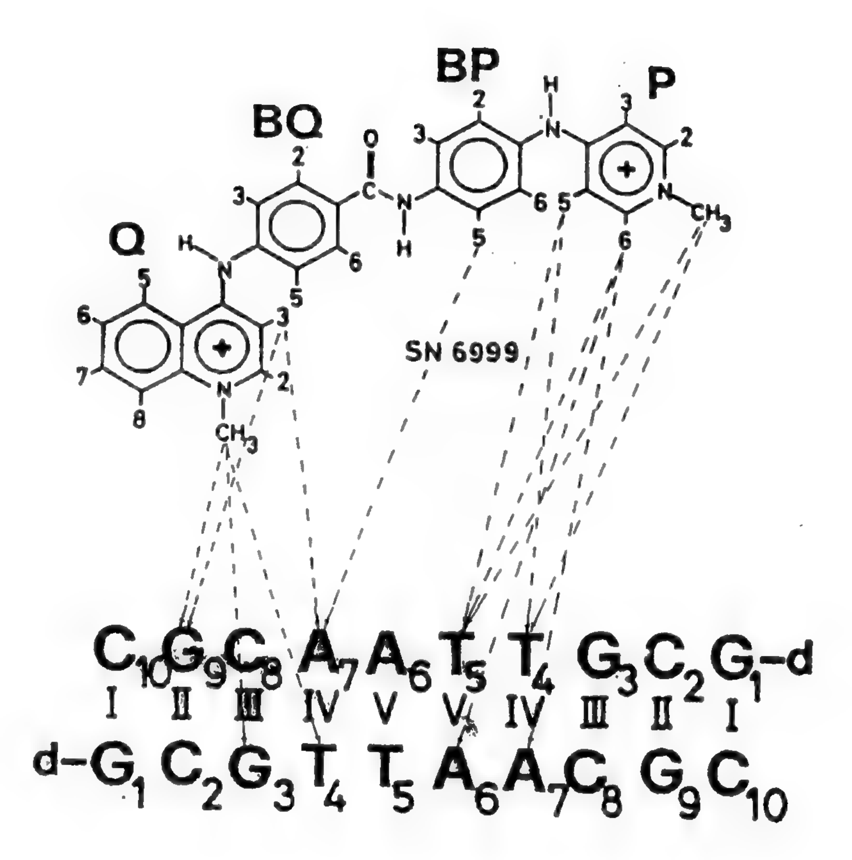


Figura 5.26. Esquema de la interacción del antibiótico SN6999 y el oligonucleótido d(GCGTTAACGC)$_2$.

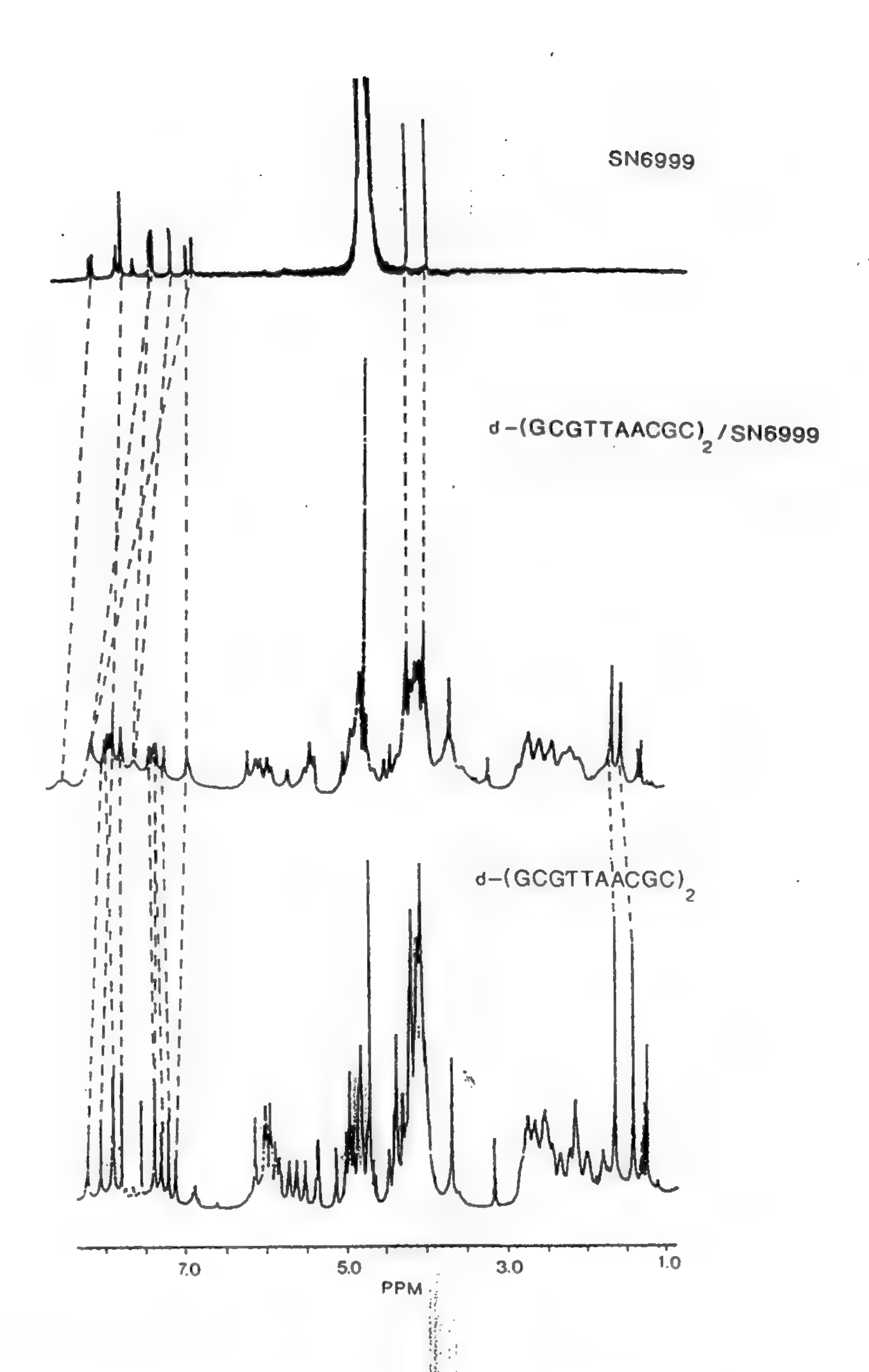


Figura 5.6. Comparación de los espectros de ^{1}H RMN 1D 500MHz de los protones no intercambiables del antibiótico SN6999, el oligonucleótido y el complejo en $^{2}H_2O$.

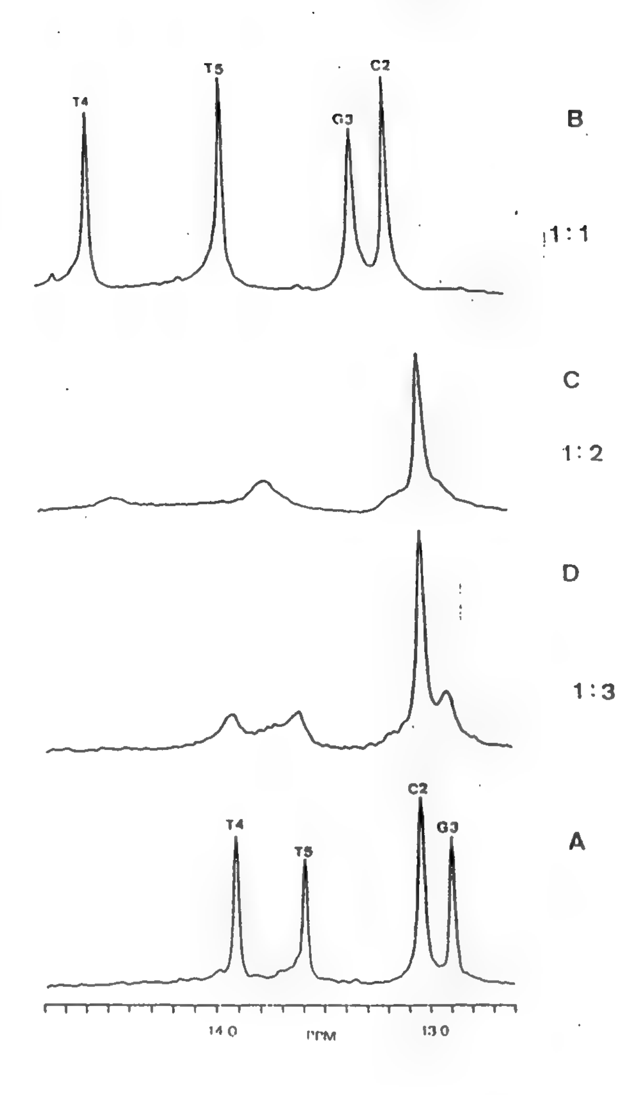


Figura 5.1. Valoración del complejo d(GCGTTAACGC)$_2$ / SN6999.

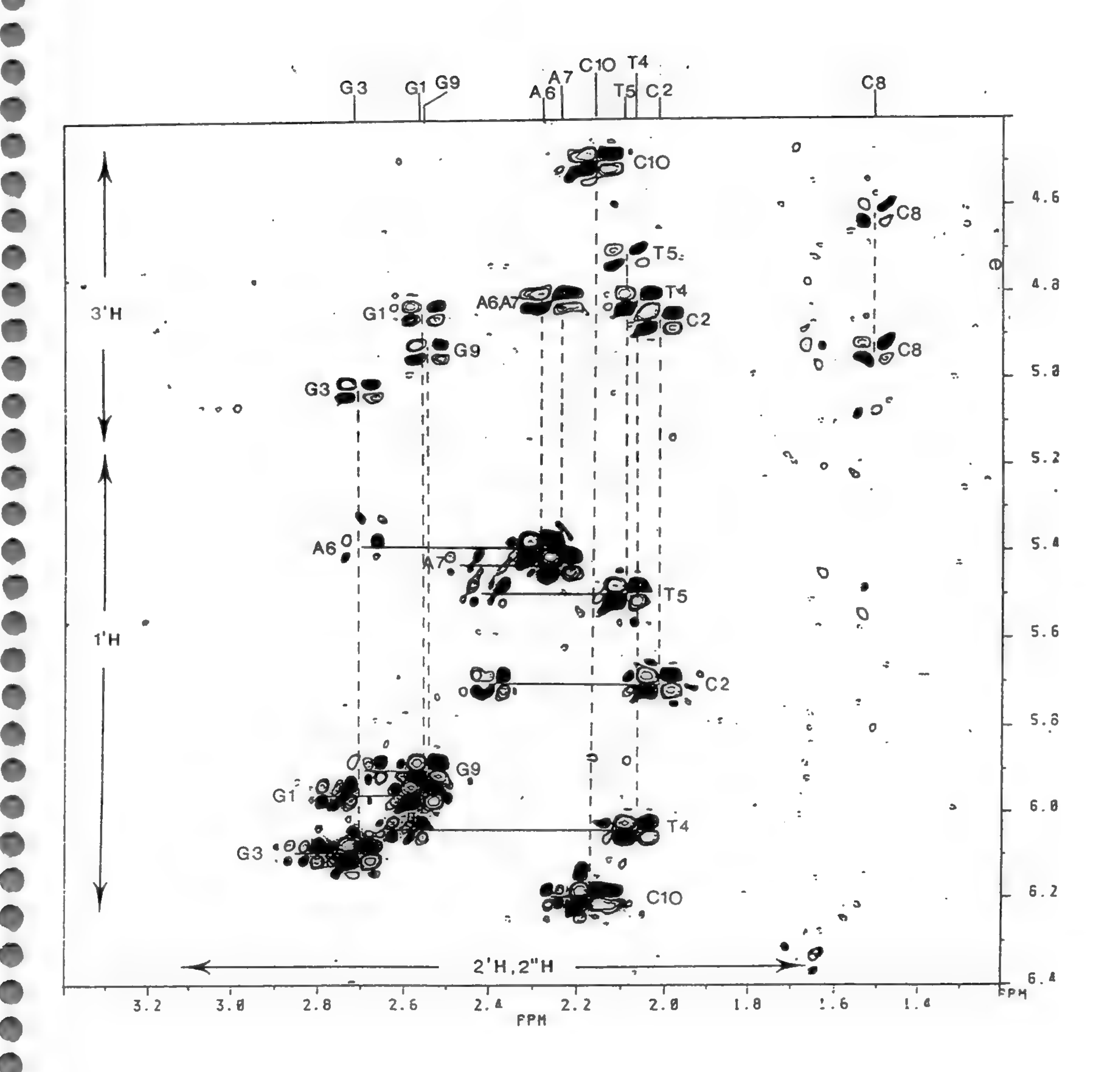


Figura 5.10 Asignación de los sistemas de spin. Conectividades 2'H/2"H ; 2'H/1'H ; 2"H/1'H ; 2'H/3'H mediante el uso del espectro DQF-COSY.

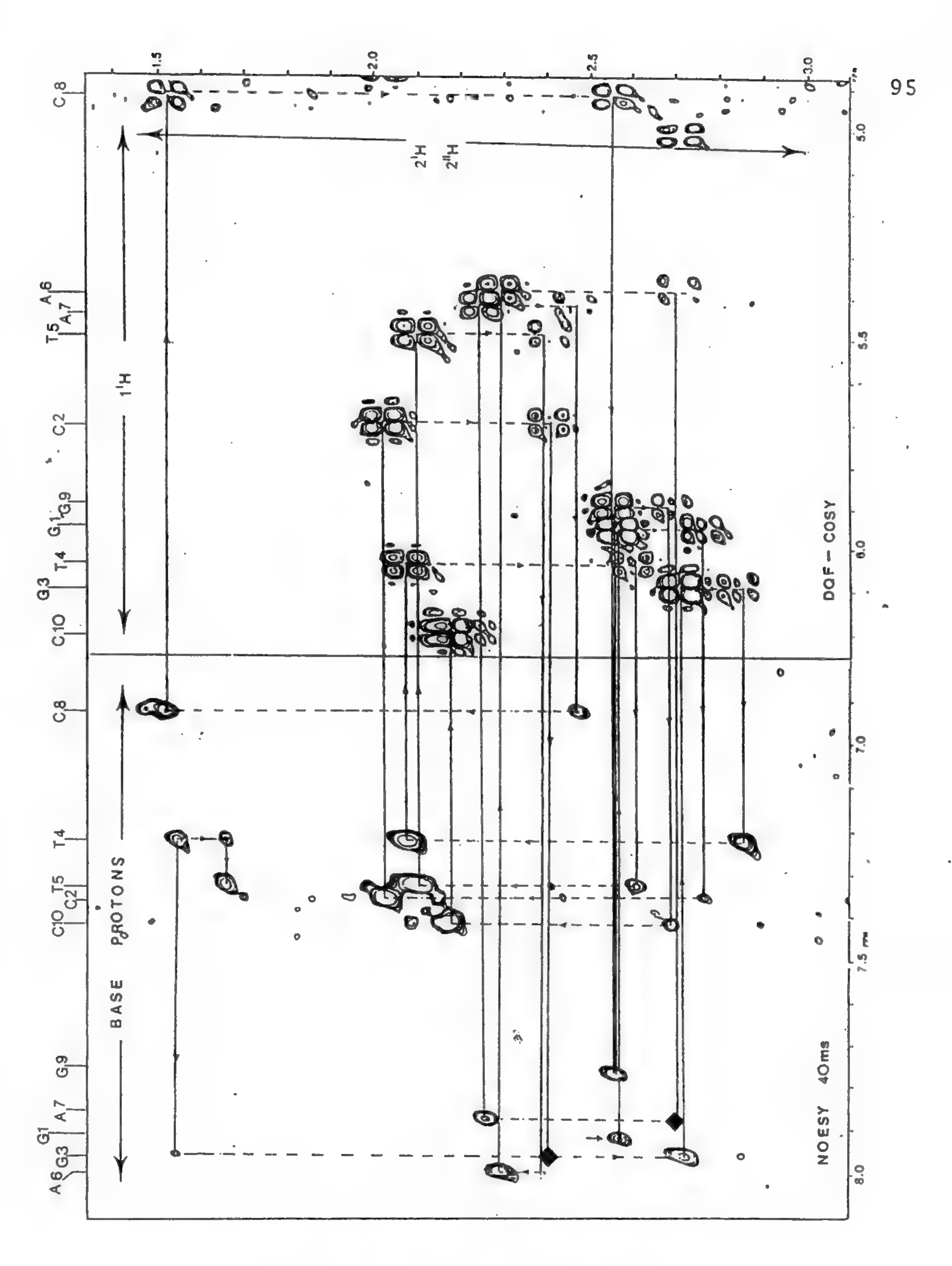


Figura 5.18. Uso combinado DQF-COSY/NOESY τ_m=40ms. Asignación secuencial de los protones 1'H/2'H ; 1'H/2"H e identificación y asignación de los protones T6H ó A8H.

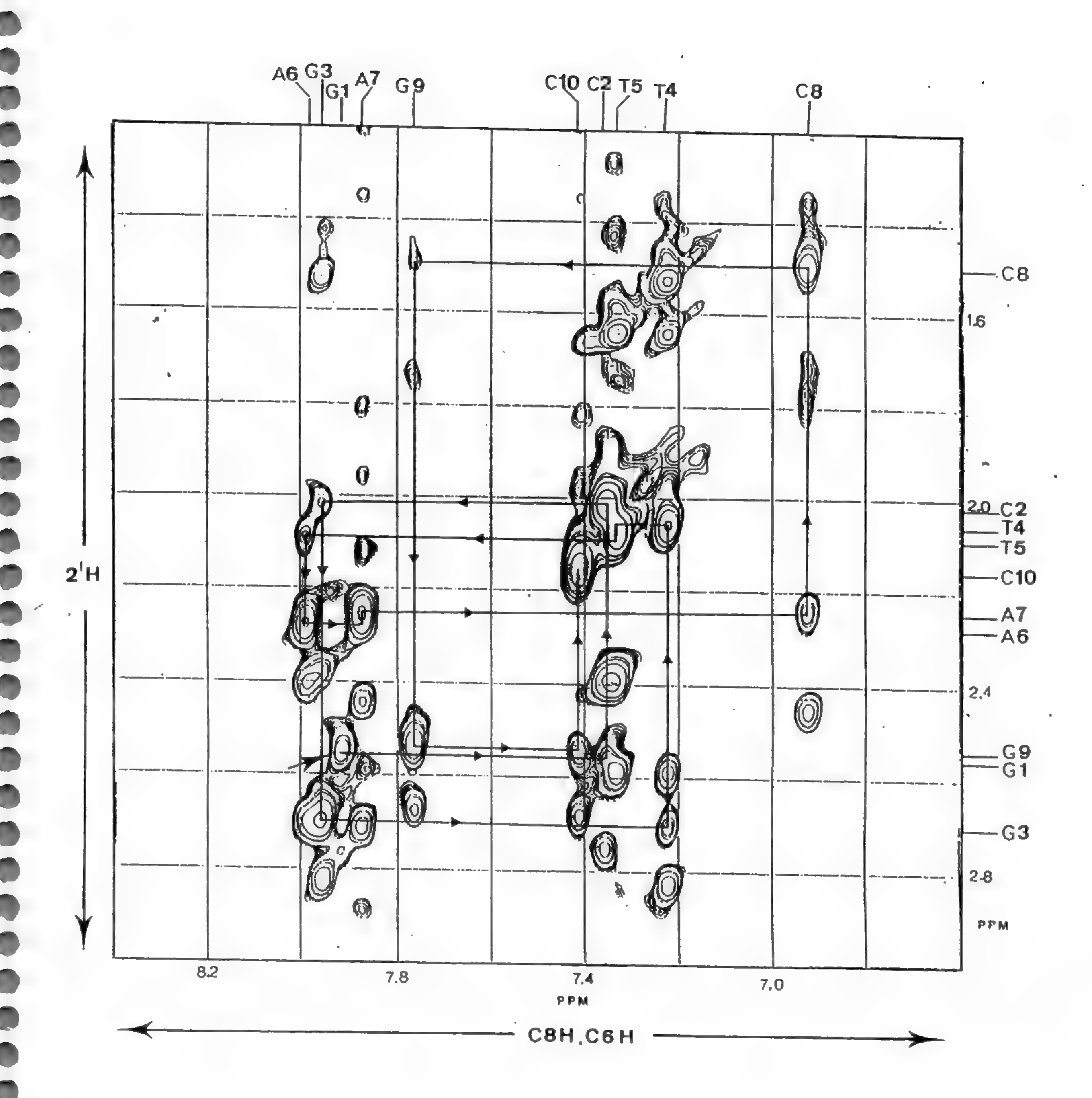


Figura 5.13. Espectro NOESY ^{1}H RMN 500MHz τ_m=300ms del complejo d(GCGTTAACGC)$_2$/SN6999. Asignación secuencial de los protones 2'H de los azúcares del complejo.

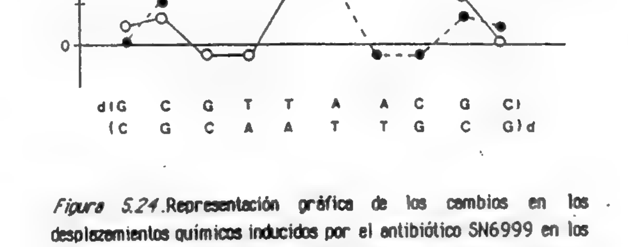


Figura 5.24. Representación gráfica de los cambios en los desplazamientos químicos inducidos por el antibiótico SN6999 en los protones no lábiles de la secuencia de ADN. Los valores positivos indican que las resonancias en el complejo aparecen a campos más altos que en el nucleótido libre.

Δδ
0.5
0
1'H
d(G C G T T A A C G C)
(C G C A A T T G C G)d

Δδ
0.5
0
2''H
d(G C G T T A A C G C)
(C G C A A T T G C G)d

Δδ
0.3
0
6H,8H
d(G C G T T A A C G C)
(C G C A A T T G C G)d

Figura 5.25. Idem *figura 5.24*.

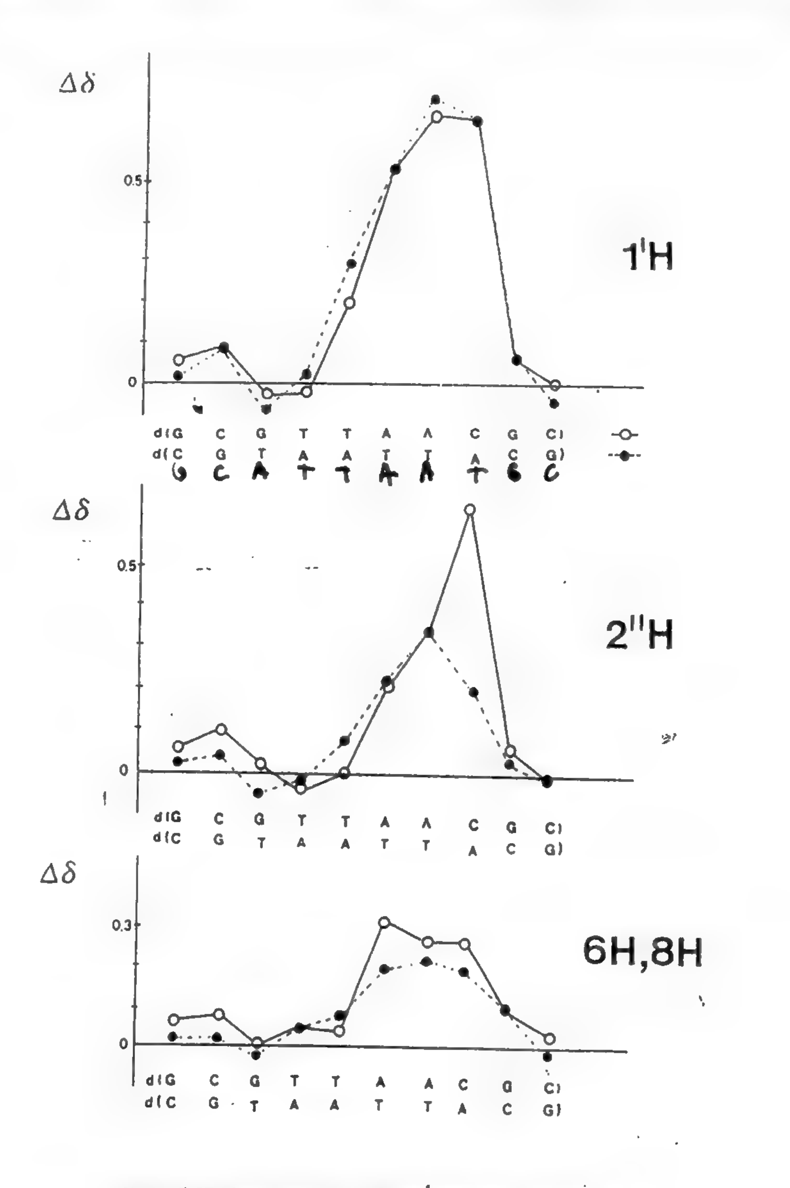


Figura 5.27. Comparación de las representaciones gráficas de los cambios en los desplazamientos químicos inducidos por el antibiótico SN6999 en los protones no lábiles de los nucleótidos $d(GCGTTAACGC)_2$ y $d(CGTAATTACG)_2$.

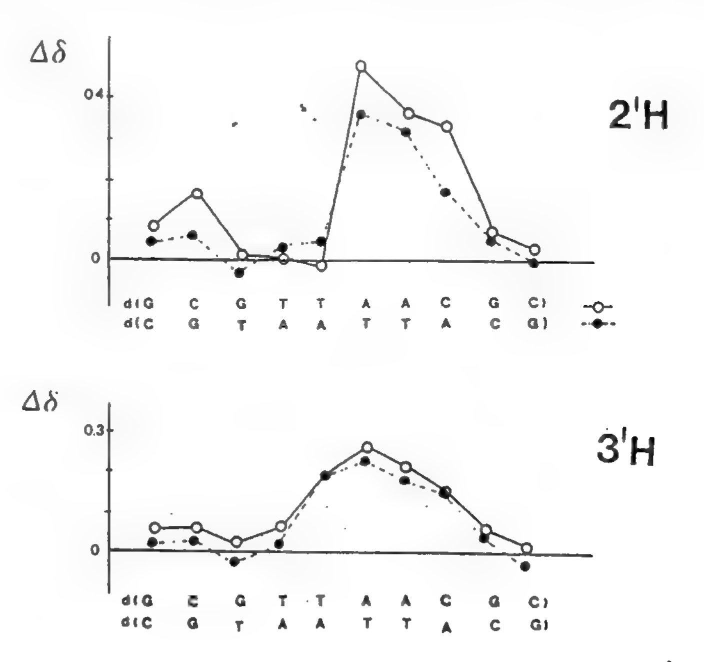



Figura 5.28. Idem figura 5.27.

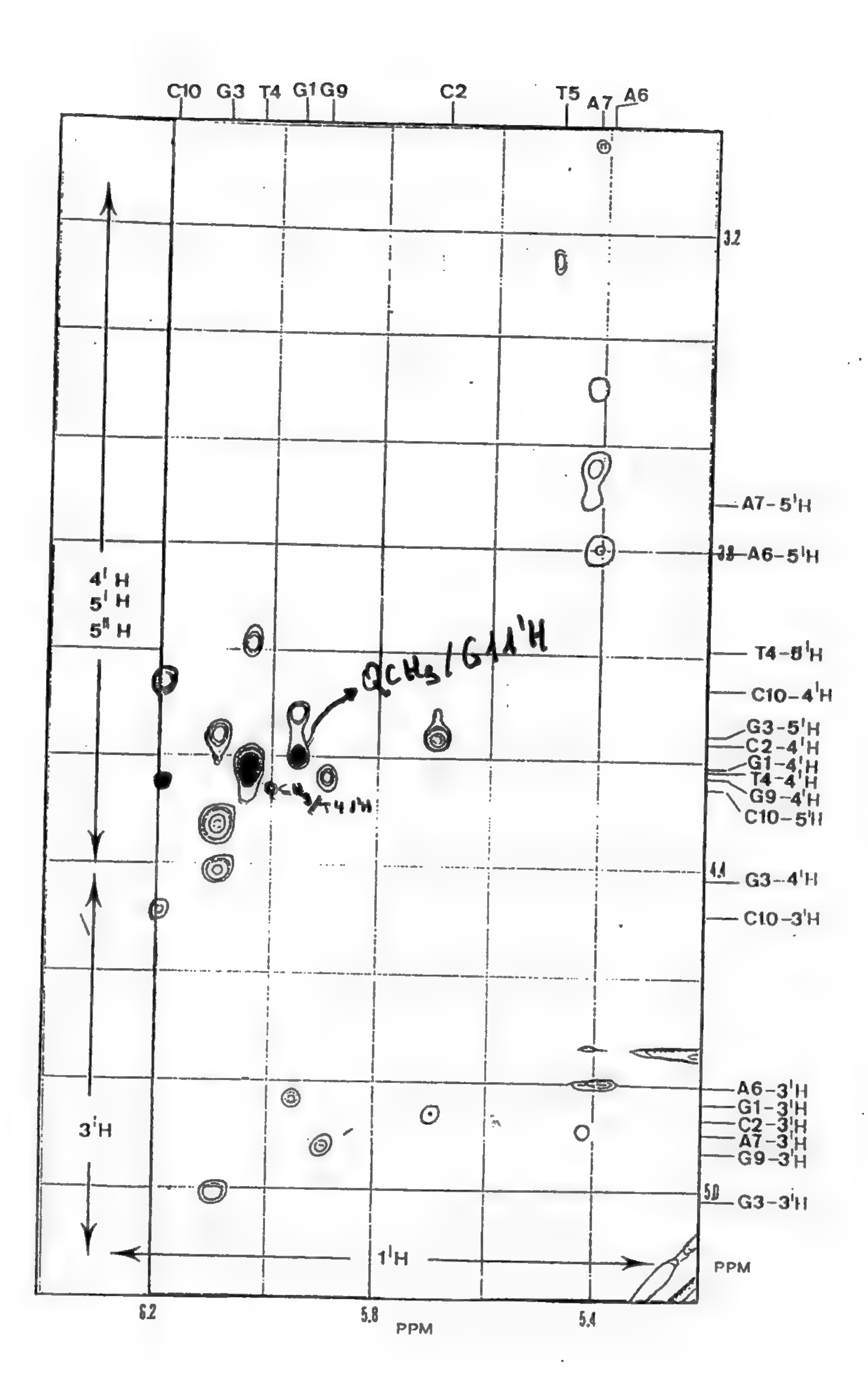


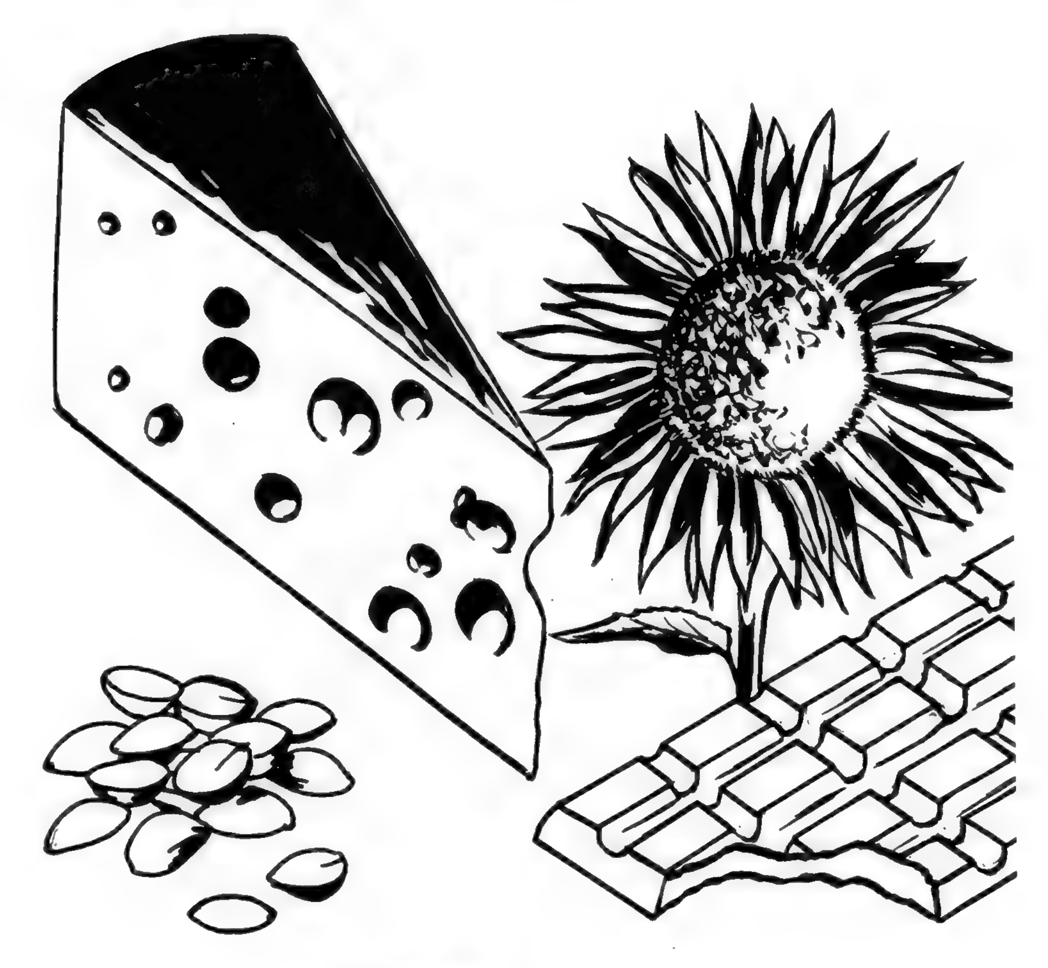
Figura 5.22. Espectro NOESY ^{1}H RMN 500MHz τ_m=300ms del complejo. Zona correspondiente a los picos cruzados de los protones no intercambiables 4'H/1'H; 5'H,5"H/1'H; 3'H/1'H.

APLICACIONES INDUSTRIALES DE LA RMN

Curso teórico de RMN
Pontificia Universidad Católica de Ecuador
Bernardo Celda Muñoz

minispec pc100

BRUKER

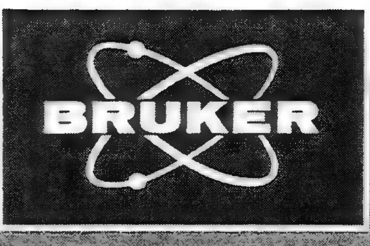


Typical Applications

Food Industry

Fat Analysis in Margarine Base Products

Dr. John McCarten, Bruker-Physik AG, Karlsruhe



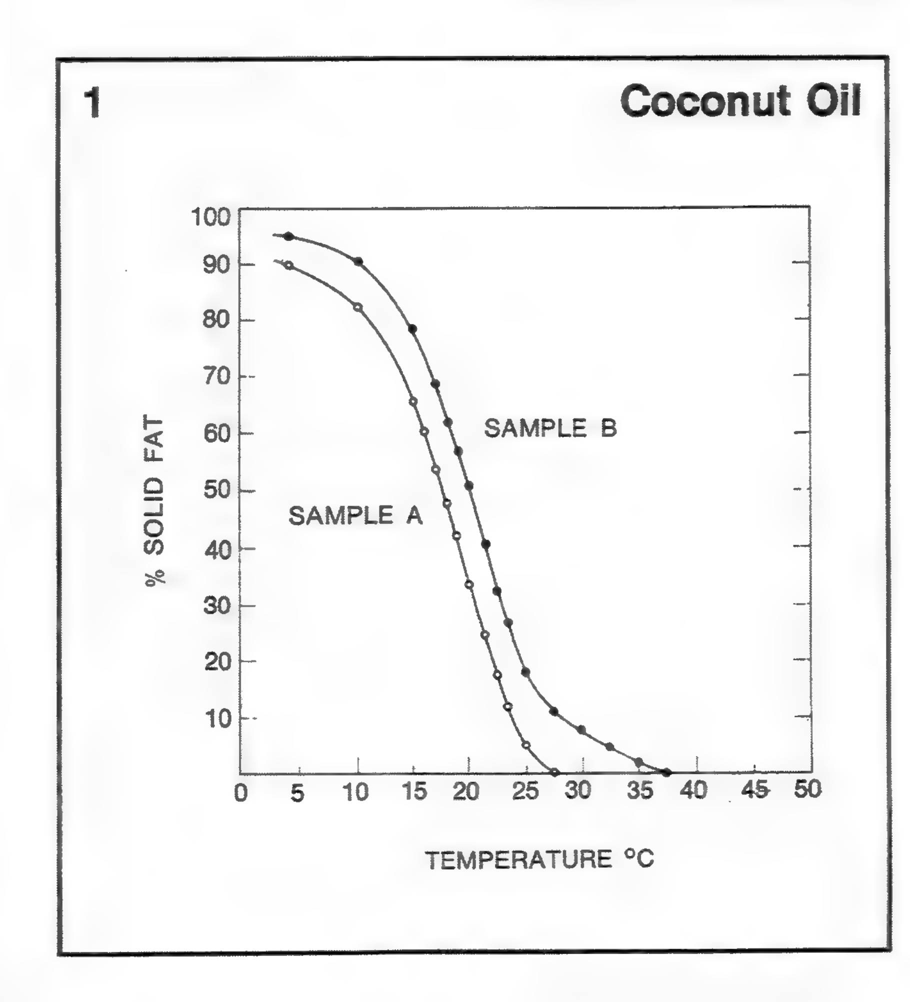
The BRUKER minispec p 20 is a low resolution transient NMR spectrometer which provides a rapid method of determining either the solid or liquid fat content in plant and animal products.

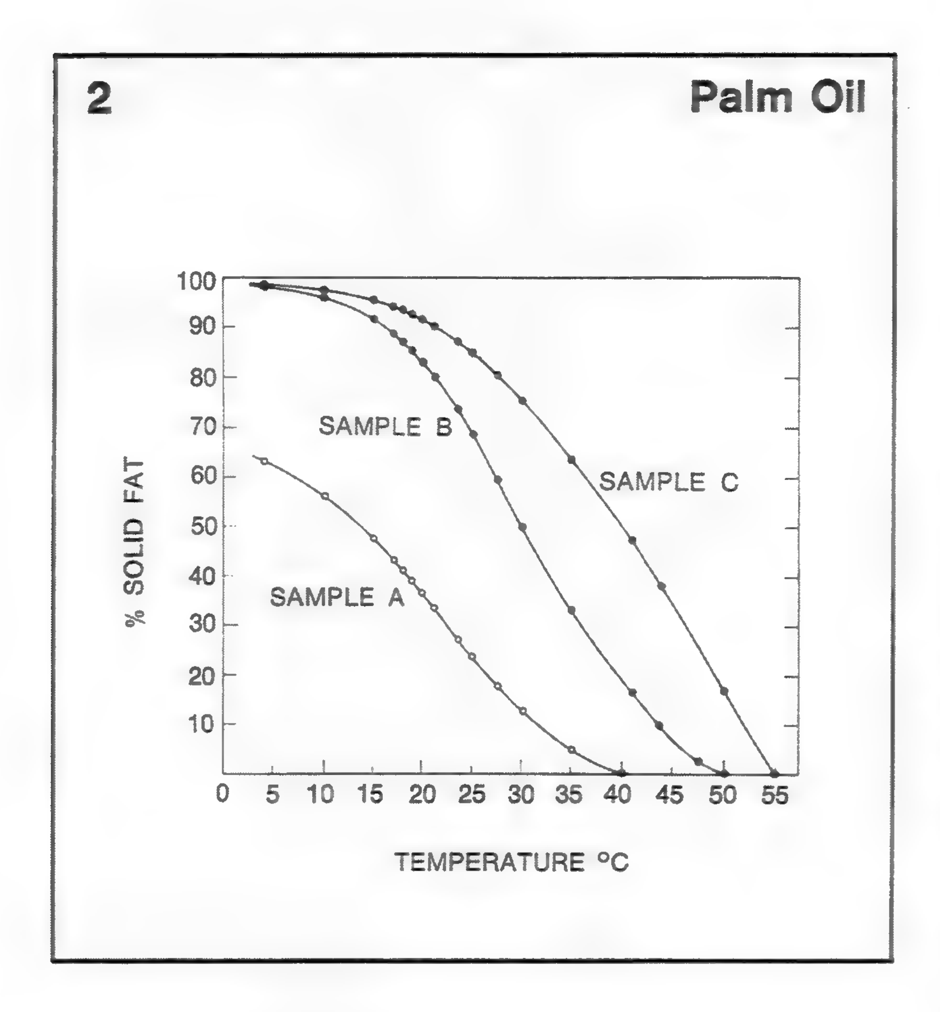
The technique exploits the fact that the various protonic groups which exist in the solid and liquid phases in organic substances, exhibit different degrees of mobility. Briefly, this means that the proton resonance free induction decay signal following a strong r. f. pulse contains two components having distinctly different decay time constants, which represent the solid and liquid components within the sample. By suitable sampling of the decaying signal at two different points in time, one obtains a direct digital readout of either the percentage of solid or liquid present.

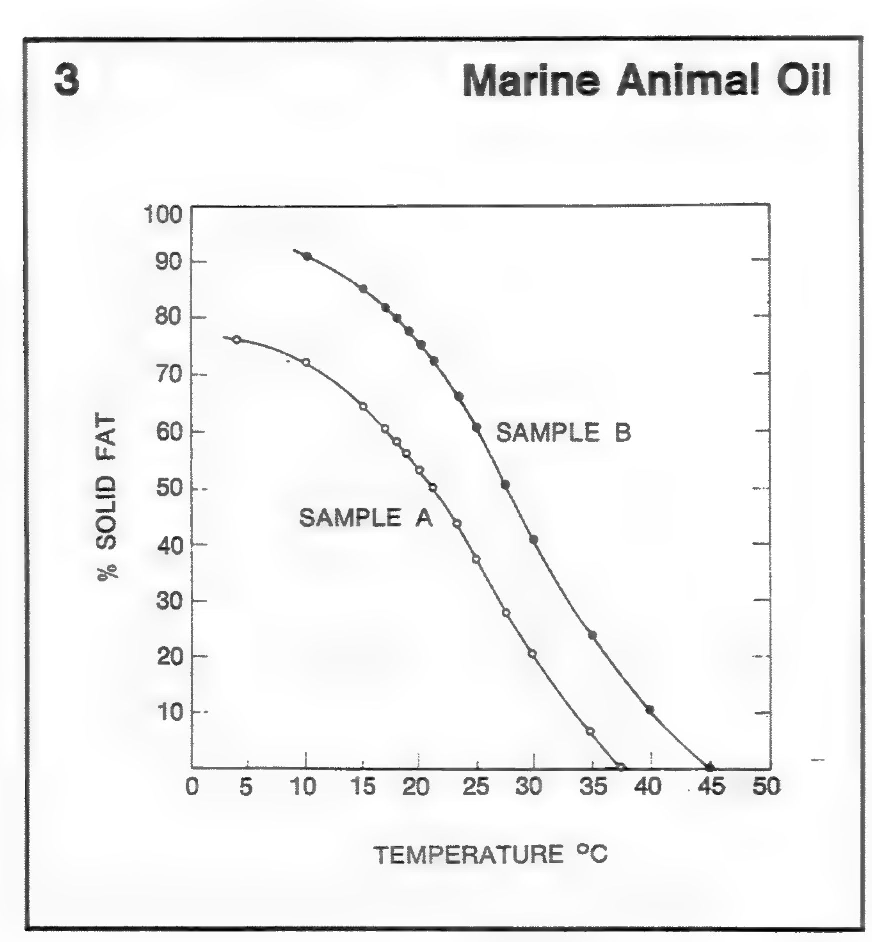
In terms of measurement time and accuracy, the NMR method offers distinct advantages over classical analytical techniques which use extraction and dilatometric methods. Within the framework of NMR methods, the transient technique employed by the minispec p 20 again offers advantages over conventional c. w. wideline methods, since it no longer becomes necessary to employ a reference sample in order to correct for saturation effects and the need to make measurements at two different temperatures. The c. w. method gives information on the liquid content only, whereas the transient technique reveals information on both the solid and liquid components.

This is of utmost importance in the study of fatty acids since the shape of the decay of the solid component reveals much information about the nature of the crystallinity of the solid fat.

One particular area where the minispec p 20 is successfully being employed is in the food industry. Food scientists have discovered a wide range of applications which include analysis of the solid content of partially crystallized fats — (dilatometry replacement) — and the oil content of seeds and grains — (Mojonnier and Soxhlet extraction replacement). Further applications include biodegradation and oxidation effects in foodstuffs, polymorphism studies in fats, and analysis of the fat content in dairy products. Other studies involve moisture content analysis in bakery products, cocoa products and margarine. In the examples outlined below, a study was made of the fat content at various temperatures in refined







and hydrogenated margarine base products. For this analysis less than 1 gram of sample was required. All samples were equilibriated for 1 hour in an oven at a temperature of 80°C before being rapidly transferred to a drilled aluminium block immersed in a water bath at a temperature of 5°C. Samples were maintained at this temperature for 30 minutes. Following this, the percentage of solid fat was monitored directly with the minispec p 20 as a function of increasing temperature.

Figure 1 shows the fat melting curve of refined and hydrogenated samples of coconut oil. A different plant product commonly used in margarine production was also investigated, and the results shown in figure 2 indicate the effect of hydrogenation on the melting characteristics of palm oil. An example of fat analysis for a hydrogenated marine animal oil is depicted in figure 3.

For all three cases, the percentage of protons in the solid phase gave a direct and immediate indication of the percentage of solid fat at a given temperature.

The minispec p 20 is a state-of-the-art instrument capable of rapid non-destructive, quantitative measurements for an enormous variety of process analysis problems. Aside from a wide range of applications in the food industry, the minispec p 20 finds application in the chemical industry, environmental studies, pharmaceutical industry and medical research. If you feel you have an application for the minispec or would like to hear more about it's applications potential, please contact the BRUKER Analytical Laboratory in Karlsruhe or your local representative.

Determination of the Fat Content and Solid-to-Liquid Ratio in Cocoa Products with the minispec p 20 NMR Process Analyzer

Dr. John McCarten, Bruker-Physik AG, Karlsruhe



Nuclear Magnetic Resonance (NMR) has been demonstrated as providing a rapid **off-line** method for the analyses of fats and oils in cocoa products.[1,2] The NMR method exploits the fact that the protons present in moisture and molten fat have a higher degree of mobility than those in crystalline substances such as protein, carbohydrates and solid fat. Briefly this means, that the proton NMR free induction decay signal following a strong r.f. pulse contains two components having distinctly different decay time constants, which represent the solid and liquid phases within the sample. By suitably sampling the decay signal at two different points in time, one obtains a direct digital readout of either the percentage of solid or liquid present.

Until recently, NMR methods in process analysis have employed the continuous wave (c.w.) technique whereby only the narrow line arising from the liquid phase can be detected and so the solid-to-liquid ratio must be determined indirectly. This is usually done by monitoring the liquid signal level at both the melting point and the measuring temperature. Again since only the liquid peak is detected, no information is available on the shape of the signal from the solid phase component, which precludes gaining information of the nature of the crystallinity of the partially crystallized fat. Finally, the c.w. instrument is normally operated under saturation conditions in order to improve signal-to-noise levels, a feature which causes the liquid signal to have a strong dependence on viscosity and temperature, and therefore renders the c.w. wideline method unsuitable for **on-line** measurements.[3]

The minispec p 20 employs pulse NMR techniques whereby, unlike the c.w. method, all measurements are made in the time domain. Using the minispec p 20, the signal components from both the solid and liquid phases are detected, which enables a direct evaluation to be made of the solid/liquid ratio or the percentage of fat present. The pulse NMR method does not therefore require pre-weighing of the sample, and is more suitable to the requirements of on-line instrumentation for process control.

Cocoa Products and Iron Contamination

During the refining process of extraction of cocoa fat from the cocoa bean, minute particles of iron from the rolling mills are mixed in with the fat so that the iron content in refined products, e.g. cocoa liquor may be as high as several hundred ppm.[4]

Iron contamination raises problems in NMR spectroscopic measurements, since it causes a degrading of the homogeneity of the magnetic field, resulting in a broadening of the NMR line detected from the liquid fat component. It is therefore impossible to use c.w. techniques to determine accurately the fat content of iron contaminated cocoa products, since the integrated value of the liquid peak bears a strong dependence on the concentration of iron.

One of the many advantages of the pulse NMR method over the c.w. method is the ability to be able to remove the influence of iron contamination on the accuracy of fat analyses by the use of a two pulse sequence to generate a proton "spin echo".[5] Only the echo width is affected by the presence of ferromagnetic impurities leaving the peak value of the echo signal as an accurate monitor of the liquid fat content. Given below are the results of fat analyses of iron contaminated cocoa products using spin echo techniques.

Cocoa Bean

A total of 8 samples of varying sizes were chosen to represent a batch of cocoa beans of West African origin. The beans were shelled and crushed before being packed into 10 mm o.d. sample tubes. All samples were dried overnight at 102°C before fat content analyses were made at 50°C. The experimental results are given in Table 1.

Table 1
Fat Content in Dried Cocoa Beans.

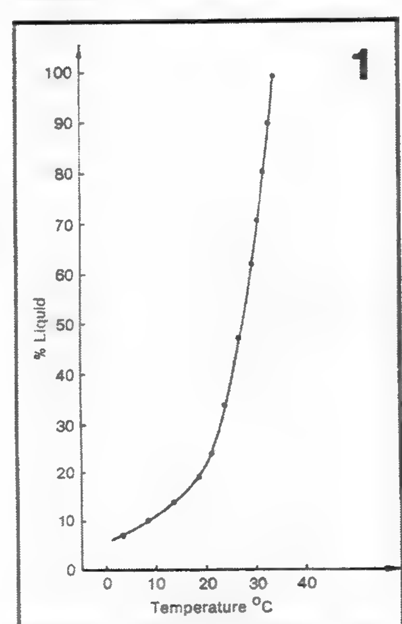
Sample	% Fat
CB. 1	55.7
CB. 2	54.8
CB. 3	56.1
CB. 4	56.2
CB. 5	54.0
CB. 6	51.0
CB. 7	56.1
CB. 8	53.2

The average value of the fat content from the 8 samples is 54.6%. This is in excellent agreement with the value of 54.9% obtained by the OICC extraction method. Furthermore it was found that the smaller beans showed a lower percentage of their weight as fat which is in agreement with the work of Fincke.[6]

Cocoa Butter

The sample of cocoa butter as received was heated to a temperature of 60°C for 1 hour to ensure the complete liquification of all fat crystals. The liquid was mixed thoroughly and transferred to an NMR sample tube. The fat was then chilled for 12 hours at 5°C before being transfered to a thermostatted water bath. Analyses were made of the liquid/solid content at increasing temperatures until the melting point was reached. The melting curve is shown in Figure 1.

Since the NMR determination is independent of the composition and the polymorphic forms of the solid phase, the NMR results are regarded to be more correct than results obtained by dilatometry.[7] The NMR method has the intrinsic advantage in that no prior knowledge of the glycerides present is required.



Chocolate

A series of 50°C NMR analyses were carried out with 11 plain chocolates which had a gradation in fat content.

A comparison of the results with those obtained by an extraction/refractometric method is summarized in Table 3. For this example the NMR readout values are tabulated and are consistently higher than those values obtained by the extraction method. This is to be expected since the extraction method gives values which are percentages by weight whereas the NMR values represent the percentage of protons present in the molten fat, and the proton density i. e. number of protons/gram for oils is larger than the proton densities for carbohydrates and protein. In Figure 2, the NMR values from Table 2 are plotted vs. the percentages by weight of cocoa fat in the form of a correlation graph. Agreement between the NMR values and the cocoa fat content is extremely good (r = + 0.998). Statistical analysis of the curve leads to the following relationship:

$$W = 0.978\,N - 13.40$$

where: W is the percentage by weight of cocoa fat (extraction)

and N is the percentage of liquid phase (NMR)

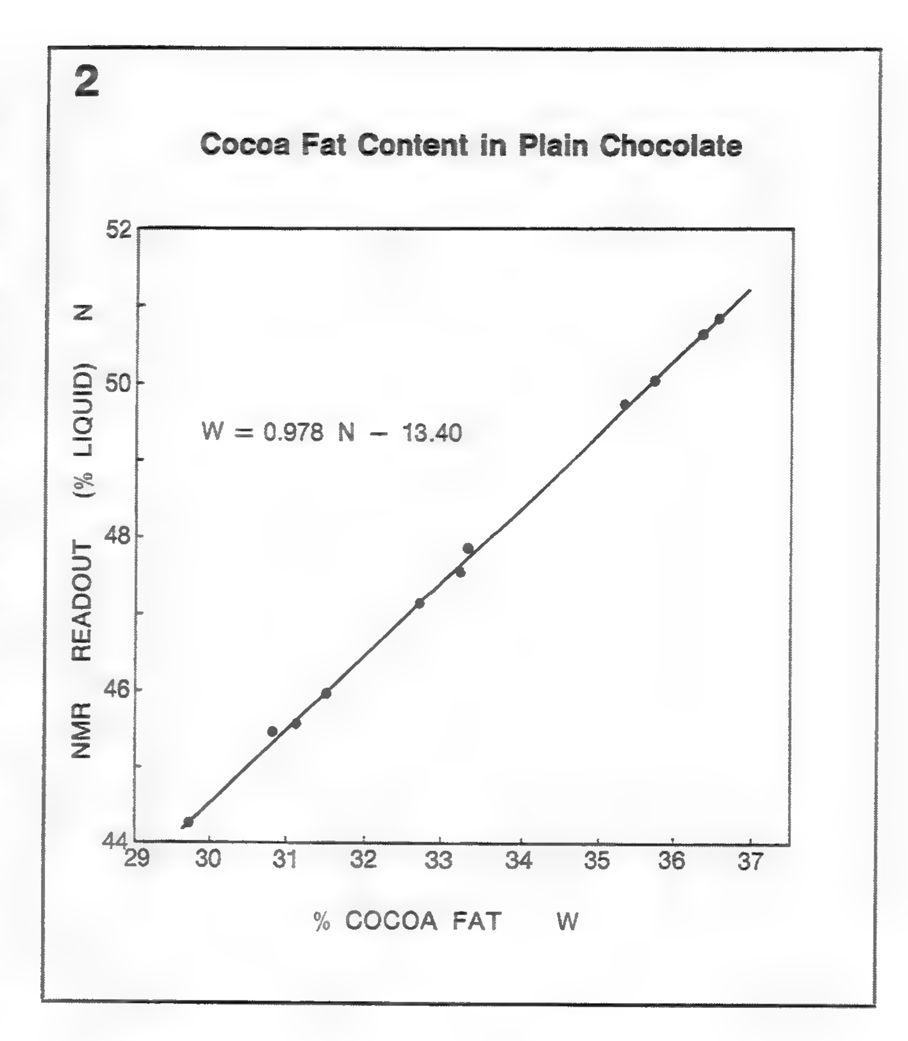


Table 2

Percentage Fat and NMR % Liquid for Plain Chocolate

Sample	% Fat Extraction	% Liquid NMR value
C 1	29.8	44.2
C 2	30.9	45.4
C 3	31.2	45.5
C 4	31.6	45.9
C 5	32.8	47.1
C 6	33.3	47.5
C 7	33.4	47.8
C 8	35.4	49.1
C 9	35.6	50.0
C 10	36.4	50.6
C 11	36.6	50.8

Cocoa Liquor

A total of 8 samples of cocoa liquor were heated to 80°C for 1 hour in order to liquify all fat crystals. The molten samples were then stirred thoroughly before being transfered to the NMR sample tubes. The samples were maintained at a temperature of 50°C before and during the course of the measurement. The average of 4 integrated values was recorded during an analysis time per sample of 12 seconds. The results are given in Table 3.

Table 3

Fat Content in Cocoa Liquor

Sample	Iron Content (ppm)	% Fat Content OICC	% Fat Content NMR
CL. 1	69	55.65	55.6
CL. 2	220	55.49	56.1
CL. 3	226	54.88	55.2
CL. 4	209	54.13	54.5
CL. 5	210	54.60	55.0
CL. 6	108	55.91	55.7
CL. 7	112	55.79	55.9
CL. 8	122	56.94	57.4

Cocoa Powder

5 samples of cocoa powder were dried overnight at 102°C before being analysed at a temperature of 50°C. The results are summarized in Table 4.

Table 4

Percentage Fat and NMR values for Dried Cocoa Powder

Sample	% Fat OICC	% Fat Content NMR
CP 1	16.4	16.6
CP 2	9.4	10.2
CP 3	15.8	15.2
CP 4	12.0	12.9
CP 5	16.0	16.0

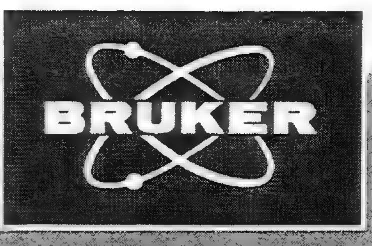
The results are the average value of 10 counts representing an analysis time per sample of 20 seconds. The precision of the method for the cocoa powder samples investigated is 1.0 %.

References

1 I. Oref: J. Am. Oil Chemists Soc. 42, 425 (1965)
2 P. H. Wiggall et al: J. Fd. Technol 5, 353 (1970)
3 K. P. van Putte and J. van den Enden: J. Sci Instrum 6, 910 (1973)
4 Private Communication (TNO, Zeist, Holland)
5 E. L. Hahn: Phys. Rev. 80, 580 (1950)
6 A. Fincke: „Handbuch der Kakaoerzeugnisse" p. 290, Springer-Verlag, Berlin 1965
7 D. Chapman et al: J. Am. Oil Chemists Soc. 37, 243 (1960)

Pulsed NMR as a routine method in the fat and margarine industry I

Dr. K. van Putte, Unilever Research, Vlaardingen, The Netherlands
Unilever Research, Editorial Dept., Olivier van Noortlaan 120, Vlaardingen, The Netherlands.





The Bruker minispec p 20, equipped with a unit which converts the signal into the percentage of solids, provides a quick method of determining the solid fat content in fats and margarines.

In the fat and margarine industry the determination of the amount of solid fat is an essential part of the process control. It is used, for example, to monitor the hardening process and the fat blending, while close control of the solid fat content is also needed to give margarine its characteristic properties. A quick, easy-to-handle routine method is indispensable.

The oldest and most widespread method is dilatometry. It is based on the expansion of melted fat, the result being indicated as the melting dilatation, which is expressed in milliliter per kilogram. This technique is very flexible and suitable for small and large sample sizes. It is particularly attractive for determinations on a laboratory scale. Although the breakage of dilatometers may be considerable, some spare ones can be easily kept in stock because of their low price (see Table 1).

Dilatometric procedures are, however, laborious and time-consuming — preparation, deaeration and weighing of the sample, including waiting times, take at least 15 min — and they require experienced personnel. Due to the large number of actions to be undertaken and due to the handling of these actions being very critical, the accuracy is poor. The standard deviation of a measurement is rather high, between 1 and 2% solids (absolute). In many cases a greater accuracy is needed and in practice the dilatations are therefore often determined in duplicate, which moreover increases the labour time considerably.

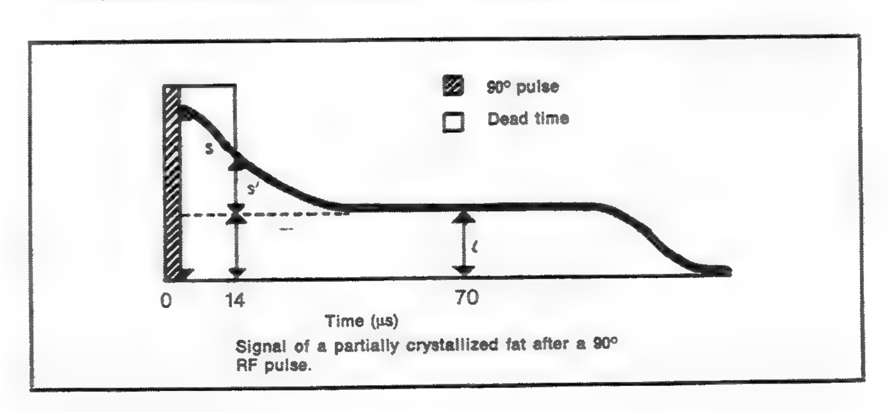
Systematic errors may also occur in the conversion of the dilatation into the percentage of solid fat. This is due to the edible fats consisting of a large number of triglycerides, all of which have their own expansion coefficients and melting dilatations, the latter varying from 50 to 90 ml/kg. Moreover, the changing composition of the sample during melting results in a change in melting dilatation of the remaining solid. In practice, average values for the melting dilatations and expansion coefficients are used, resulting in systematic errors of 1 - 2% solids (absolute).

No wonder that intensive studies have been made [1–8] to replace dilatometry by different techniques, such as wide-line NMR. This technique has received much attention during the past five years and relatively cheap wide-line analysers have meanwhile become available. Sample pretreatment for NMR is less time-consuming and less critical than that for dilatometry. Nevertheless serious drawbacks remain.

- The wide-line analyser gives only the narrow peak from the liquid fat. To avoid weighing, not only the signal at the desired temperature but also that of the melted fat are required. Due to the stabilization procedure to be applied, the interval between both measurements is at least one hour; electronic instabilities (amplification) from, for instance, changes in the room temperature, may thus introduce considerable inaccuracies.
- Saturation conditions are needed to obtain a sufficiently strong signal-to-noise ratio, which implies that the signal is dependent on viscosity and temperature. Even with a well-chosen reference sample as olive oil, systematic errors of 1-2% solids remain[4]).
- Automation is hardly possible, as the procedure requires melting of the sample. Even if the signal of the melted sample "in line" remains constant (no air bubbles and changes in the amplification), considerable errors may occur with samples larger than the rf coil. This is due to the difference in density (4 - 10%) between solid and liquid fat. For a sample of 50% solids, the apparent decrease in solids content is 2 - 5%. The only way to avoid these errors is by using samples smaller than the rf coil.

Although pulse NMR could solve these problems, it was not used for this purpose until a few years ago because of the high cost of apparatus. Relatively cheap instruments that have in the meantime become available, such as the Bruker minispec p 20, have changed the situation.

The solid fat measurement by pulse NMR is based on the processing of both the liquid and the solid signal [9–10]). The measuring procedure is fully automated and the percentage of solids is displayed direct on a digital voltmeter. The measuring time is dependent on the standard deviation permitted: 2 s for a standard deviation of 0.5% solids, 6 s for that of 0.3% solids. These short measuring times give the minispec almost unlimited capacity.



Signal of a partially crystallized fat after a 90° RF pulse.

The signal can be obtained directly from the magnetization decay of the solid fat protons and is equal to the signal immediately after the 90° pulse (s+l in figure 1). However, due to the dead time of the receiver it is not possible to measure the initial signal height (s+l) but only the signal height (s'+l) a certain time (e.g. 12 μs) after the 90° pulse. For the determination of the solid fat content we need to know signal s which can be obtained by multiplying s' by a correction factor f for the dead time which is dependent on T_2 of the solid fat protons. The solid fat percentage S(t) at temperature t can be expressed in the signals s' and l according to figure 1:

$$S(t) = \frac{fs'}{l+fs'} 100\,\%$$

The correction factor f (s/s') can be determined from the signal height of the melted sample and s'.

Some features of dilatometry, wide-line and pulse NMR are summarized in Table 1. We have assumed that the solid fat contents of 10 samples have to be measured at 10° and 30°C. With dilatometry and wide-line NMR the sample is kept at 60°C for 30 min before measuring the dilatation and liquid signal respectively. With pulse NMR no measurement is needed at 60°C; the sample is therefore kept at this temperature for only 5 min to allow it to be melted. Since fats are slowly crystallizing systems, stabilization times of 30 min are needed. Costs of labour include not only costs from measuring times, but also those from filling, deaeration and cleaning times as well as those from giving standby.

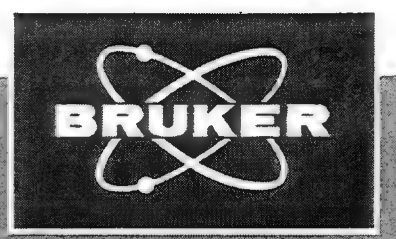
The results clearly show that the minispec p 20 gives not only a considerable saving in cost of labour but, under the conditions applied, it also reduces the measuring time of the solid fat determination by more than a factor of 2.

References

1. Bosin, W.A. and Marmor, R.A., J. Amer. Oil Chem. Soc. **45**, 335–337 (1968).
2. Mansfield, P.B., J. Amer. Oil Chem. Soc. **48**, 4–6 (1971).
3. Haighton, A.J., Vermaas, L. F., and Den Hollande, C., J. Amer. Oil Chem. Soc. **48**, 7–10 (1971).
4. Haighton, A.J., Van Putte, K., and Vermaas, L.F., J. Amer. Oil Chem. Soc. **49**, 153–156 (1972).
5. Mertens, W.G. and de Man, J.M., Can. Inst. Food Sci. Technol. J. **5** (2), 77–81 (1972).
6. Swindells, C.E. and Ferguson, P.A., J. Inst. Can. Sci. Technol. Aliment **5** (2), 82–86 (1972).
7. O'Conner, R.T., Allen, R.R., Brobst, K.M., and Herb, S.F., J. Amer. Oil. Chem. Soc. **49**, 431A–433A (1972).
8. Vermaas, L., J. Amer. Oil. Chem. Soc. **49**, 435A–437A (1972).
9. Van Putte, K. and Van den Enden, J., J. Sci. Instrum. (J. of Phys. E) **6**, 910–912 (1973).
10. Van Putte, K. and Van den Enden, J., to be published.

Table 1. Comparison of three techniques for the determination of the percentage of solids in fats (10 samples).

Feature	Dilatometry	Wide-line NMR (Newport)	Pulse NMR (Bruker minispec p 20)
Crystallization step	30 min at 60°C and 30 min at 0°C	30 min at 60°C and 30 min at 0°C	≈ 5 min at 60°C 30 min at 0°C
Melting programme	10, 30 and 60°C (30 min each)	10 and 30°C (30 min each)	10 and 30°C (30 min each)
Overall time of determination (min)	225	195	105
Capacity of instrument (samples p. hour)	—	≈ 30	> 200
Cost of labour expressed in actual working time of assistant, per 10 samples (min)	75	60	10
Standard deviation (% solids)	1 — 2	0.6	0.3
Measuring time of apparatus (s)	—	90	6
Price of instrument (DM)	≈ 30	30 000 — 40 000 (including temperature control of sample holder)	≈ 40 000 (no temperature control of sample holder needed)
In-line application	poor	poor	appropriate
Direct display of percentage of solids	no	no	yes



Pulsed NMR as a routine method in the fat and margarine industry II

Dr. K. van Putte, Unilever Research, Vlaardingen, The Netherlands

Processing of the NMR signal and optimization of the methods for fats and margarines

The determination of solid fat by pulsed NMR is based on the fact that its transversal magnetization decays much faster than oil. The spin-spin relaxation time (T_2) of solid fat is about 10 µs, that of oil 100 ms. The signal of a partially crystallized fat after a strong r.f. pulse is shown in Fig. 1. To obtain an optimum signal-to-noise ratio we use a 90° r.f. pulse.

The solid fat content can be determined[1]) indirectly when we use the signal of the liquid only, which method is similar to the continuous wave (wide-line) technique, and directly when we process both the signals from the liquid and the solid fat. Since we need the indirect method as reference for the direct one, we will describe them both.

Indirect method (liquid signal only)

The magnetization of the solid fat decays very fast; the signal at e.g. 70 µs is far less than 0.1 % of the initial value. We use this time interval of 70 µs as a compromise between T_2 of solid fat and the inhomogeneity of the permanent magnet. This inhomogeneity can be expressed in the time interval in which the liquid oil signal is half its initial value. This time interval is about 1 ms and the decrease in the magnetization of the liquid oil at 70 µs will therefore be smaller than 1 %. The signal height at 70 µs after the 90° pulse will be proportional to the number of protons in the liquid (see l in Fig. 1).

A measure of the number of solid fat protons can be obtained by melting the sample. The signal height will then be proportional to the total number of protons. If we correct this signal for the temperature dependence of both the equilibrium magnetization M_0 and the Q factor of the receiver coil (by means of the signals of a reference oil at both temperatures) and neglect the difference in proton content of liquid and solid fat, the solid fat percentage S(t) at temperature t will be:

$$\text{Sind}(t) = \frac{c\, l(t_m) - l(t)}{c\, l(t_m)} \cdot 100\,\% \quad (1)$$

where $l(t_m)$ is the signal height of the melted sample at temperature t_m and $c = l_{ref}(t)/l_{ref}(t_m)$. The index ref. indicates to a reference sample of oil which is liquid at temperatures t_m and t.

It is of the utmost importance to keep the sample height below the length of the receiver coil (e.g. sample height equal to half the coil length). Due to the difference in density between solid and liquid fat (5–9 %) the volume of the sample differs considerably between the temperatures t_m and t and large systematic errors may easily occur with full sample tubes (e.g. 3–5 % solids for a sample containing 50 % solids). Therefore this indirect method cannot be used in-line.

Since the influence of the inhomogeneity of the magnet is almost equal for the sample at temperatures t_m and t, the remaining systematic error in the solid fat content will be smaller than 0.1 %. From considerations of long-term stability in particular of the magnet diode rather than phasesensitive detection is used. The diode-detection has been linearized by adding a d.c. voltage to the signal. The non-linearity for weak signals remains but gives only systematic errors for solid fat contents above 95 % which are of less importance for edible fats. The measuring time corresponding with a standard deviation of about 0.3 % is 6 s.

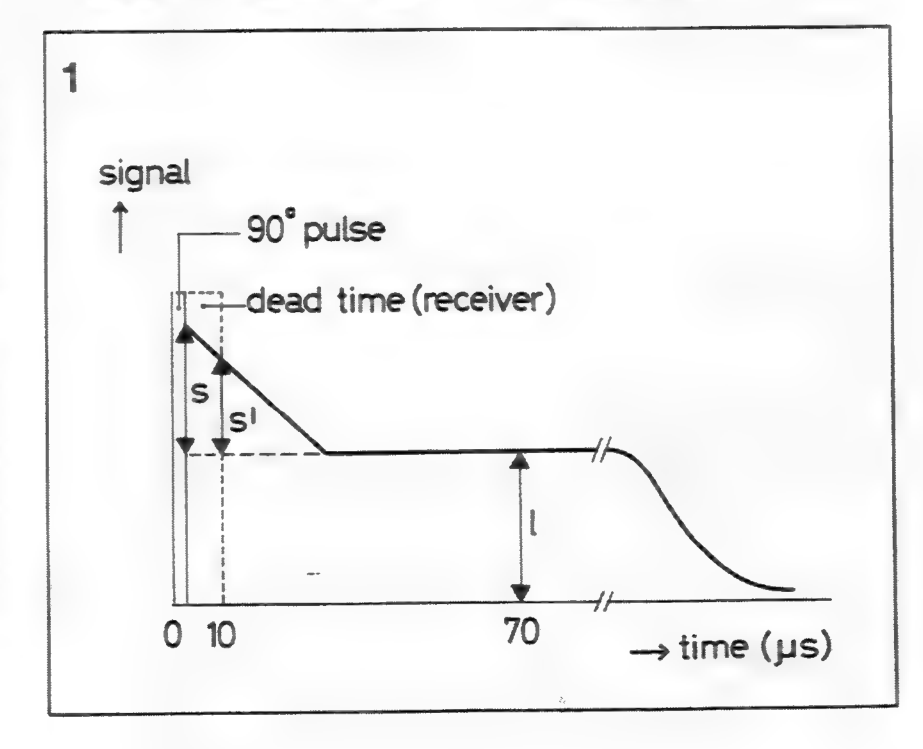
Direct method (liquid and solid fat signal)

The signal $c\, l(t_m)$ (egn. 1) which can also be determined from the magnetization decay of the solid fat protons is equal to the initial signal height (s + l, see Fig. 1). However, due to the dead time of the receiver it is not possible to measure (s + l) but only (s' + l) being the signal height a certain time after the 90° pulse. By multiplying s' by a correction factor f which is dependent on T_2 of the solid fat protons, the solid fat content, Sdir (t), can be expressed as:

$$\text{Sdir}(t) = \frac{f\, s'}{l + f\, s'} \cdot 100\,\% \quad (2)$$

Factor f can be determined by using the indirect method as reference. Before the

Fig. 1 Magnetization decay of a partly crystallized fat.



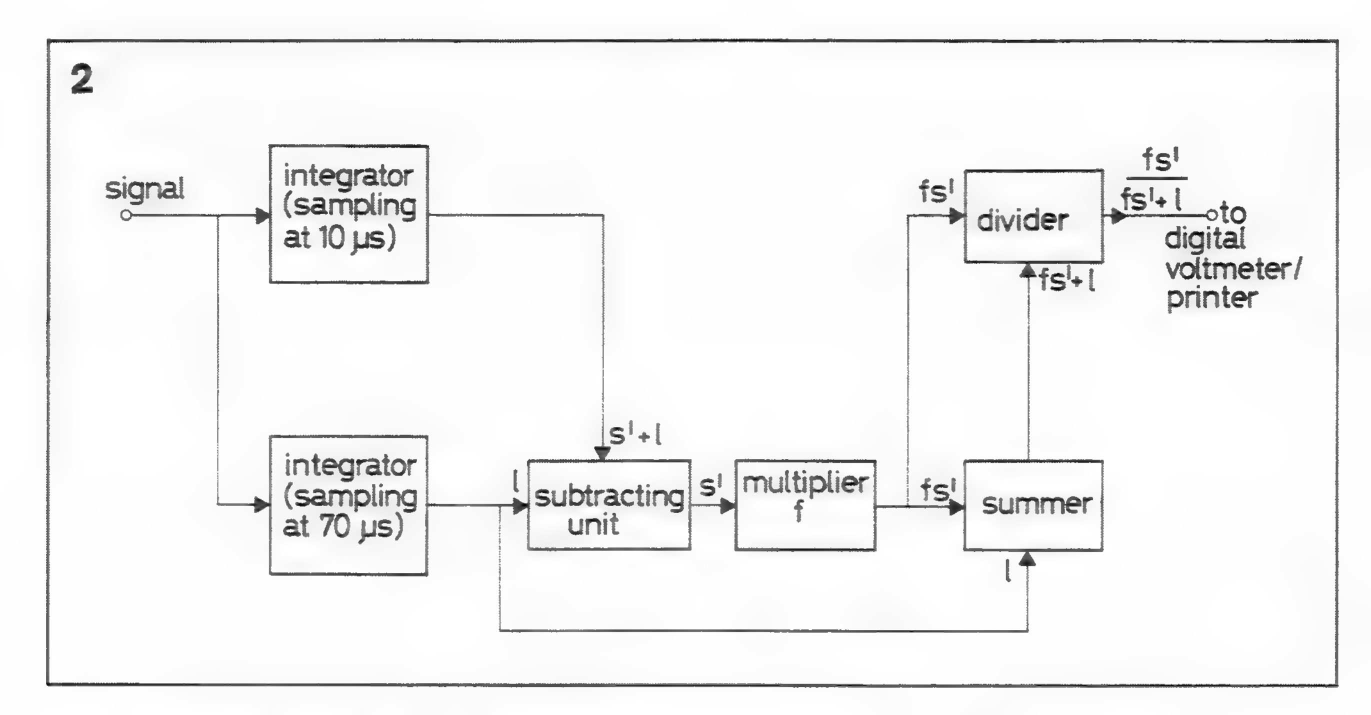


Fig. 2 Processing unit.

direct measurement is started an arbitrary value, (fadj.), is adjusted. From the difference in solid fat contents measured directly and indirectly, we can calculate the f-value (fcalc) which we have to adjust in order to obtain the same solid fat content using the direct and indirect method.

$$f_{calc.} = f_{adj.} \frac{\frac{100}{S_{dir}} - 1}{\frac{100}{S_{ind}} - 1} \qquad (3)$$

Processing unit [2])

A quick and easy routine method is indispensable for solid fat determinations in factories. The pulsed NMR signal contains all information needed for determining the solid fat content whereas the direct method is very suitable for automation. Based on these facts a unit has been developed which processes the free induction decay into a direct display of the solid fat content on a digital voltmeter (Fig. 2). The measuring procedure is fully automatic and is started as soon as a sample is put in the sample holder. Two integrators sample the signal from the spectrometer at 10 and 70 µs. Both signals are led into the subtracting unit which supplies the signal s'. After multiplying s' by f (adjustable from 1–10), the signal fs' is fed into a divider together with the sum fs' + l, giving the solid-to-liquid ratio fs'/(fs' + l) (see eqn. 2). This ratio is displayed on a digital voltmeter or printed out. The measuring time depends on the standard deviation required: a standard deviation of 0.3 % (trigger time 2 s) corresponds with a measuring time of 6 s. The preparation of a sample is very simple and takes about 15 s. Air bubbles or small amounts of water do not disturb the measurements. The filling height of the tube is not critical, moreover weighing is not required.

Solid fat factor f

We investigated the possibilities of using a constant f-value in order to avoid adjustment of f before every measurement. The solid fat factor f makes allowance for the decrease of magnetization due to the dead time of the receiver. The decrease of magnetization depends on the spin-spin relaxation time T_2 so that also f is dependent on T_2 · T_2 makes allowance for the positions of and the distances between the nuclei and in particular for their mobility. Lattice defects often give rise to a high degree of mobility of the molecules resulting in a increase of T_2. Edible fats which consist of a large number of different triglycerides, show widely varying T_2 values. T_2 and consequently f is dependent on:

- fat composition;
- fat temperature (the composition of the solid changes with the temperature);
- crystal modification;

triglycerides can crystallize into different crystal modifications: α, β' and β; strong undercooling often leads to the less ordered α modification which gradually transforms at higher temperature into β' (or β). T_2 of the α modification is often at least a factor of 2 larger than of β' and β[3]).

The dependence of f on the fat composition increases with increasing dead time of the receiver. In the ideal situation of a dead time of zero, f will be 1.00. To demonstrate the importance of keeping the dead time as short as possible we performed two series of experiments with dead times of 12 µs and 7 µs (Fig. 3, 4). The f-values were determined by comparing the direct and indirect method. Since f is also somewhat dependent on the pulse width we kept it constant (3 µs). Below 50 % solids the measuring accuracy of f decreases with decreasing solid fat content, above 50 % solids with increasing solid fat content (see 95 % confidence intervals, Fig. 3). The f-values calculated from solid fat contents <5 % were neglected because of inaccuracy. The scattering around the mean f is considerable which is mainly due to systematic deviations. Using the mean f of 2.20 (Fig. 3) this leads to systematic errors of 3–4 % at most. Since systematic errors of this magnitude are not permissible we tried to find a quick method to solve this problem.

As f is highly temperature dependent the systematic errors can be reduced by readjusting f manually for each temperature. This, however, is time consuming and easily gives rise to mistakes. Automatic correction of the temperature dependence of f seems rather complicated, we therefore looked for an indirect way of correcting. Since the solid fat content decreases at increasing temperature (Fig. 3), we expect f to increase at decreasing solid fat content for the following reasons:

- components melting at higher temperature (saturated compounds) often give rise to fewer imperfections than components melting in the low-temperature region:
- the less ordered α crystals melt at a lower temperature than the better ordered β' and β crystals and may transform into β' and β.

Therefore we have developed an electronic device which corrects the solid fat content automatically for the changing f at a dead time of 12 µs. The following step function was used:

f = 2.50	0	≤ % solids	≤ 10
f = 2.30	10	< % solids	≤ 20
f = 2.10	20	< % solids	≤ 40
f = 2.00	40	< % solids	≤ 80
f = 1.90	80	< % solids	≤ 100

At the start of the measurement f is adjusted at 2.50. The signals of the first two 90° pulses are processed with this f-value. The output of the divider of the processing unit (proportional to

the percentage of solids) is fed to the correction unit, which readjusts f according to the stepfunction. The percentage of solids is then recalculated with the new f-value after which the corrected percentage of solids is shown on the digital voltmeter directly after the third 90° pulse (total measuring time 6 s). The remaining systematic errors are 1–2 % at most.

As mentioned before, reduction of the dead time does not only result in lower f-values but also in a reduction of the systematic errors. Bruker succeeded in reducing the dead time of the minispec from 12 μs to less than 7 μs which corresponds, between 10 and 45°C, with a decrease of the mean f from 2.20 to 1.37 (Table 1) To investigate the consequences of using a mean f of 1.37, we compared the pulse values obtained directly (f = 1.37) with those obtained by the indirect method and determined the regression line. The overall standard deviation around this line was 0.7 % solids and the systematic errors proved to be < 1 % Factor f is much less dependent on the solid fat content when using a dead time of 7 μs than when using a dead time of 12 μs. (cf. Figs. 3 and 4).

Subsequently we tried again to improve the accuracy by introducing a correction function with three steps:

f = 1.42 0 ≦ % solids ≦ 25
f = 1.36 25 < % solids ≦ 40
f = 1.34 40 < % solids ≦ 100

After comparing the direct pulse values using the step function with the indirect ones, improvement appeared to be negligible.

Table I shows that f is greatly dependent on the temperature. We calculated the percentages of solids in the case of adjusting f for each temperature using the direct method. When these values are compared with those measured indirectly, the standard deviation around the regression line is 0.5 % solids, which means a considerable improvement. However, as no automatic correction unit is available, we are of the opinion that the use of a mean f under the present instrumental conditions is sufficiently accurate.

Since factor f is an empirical parameter dependent on the apparatus, it is of the utmost importance to standardize the instrumental conditions such as dead time and pulse width.

References

1. Van Putte, K. and Van den Enden, J., J. Amer. Oil Chem. Soc. 51, 316–320 (1974).
2. Van Putte, K. and Van den Enden, J., J. Sci. Instrum. (J. Phys. E) 6, 910–912 (1973).
3. Chapman, D., Richards, R. E. and Yorke, R. W. J. Chem. Soc. 1960, 436.

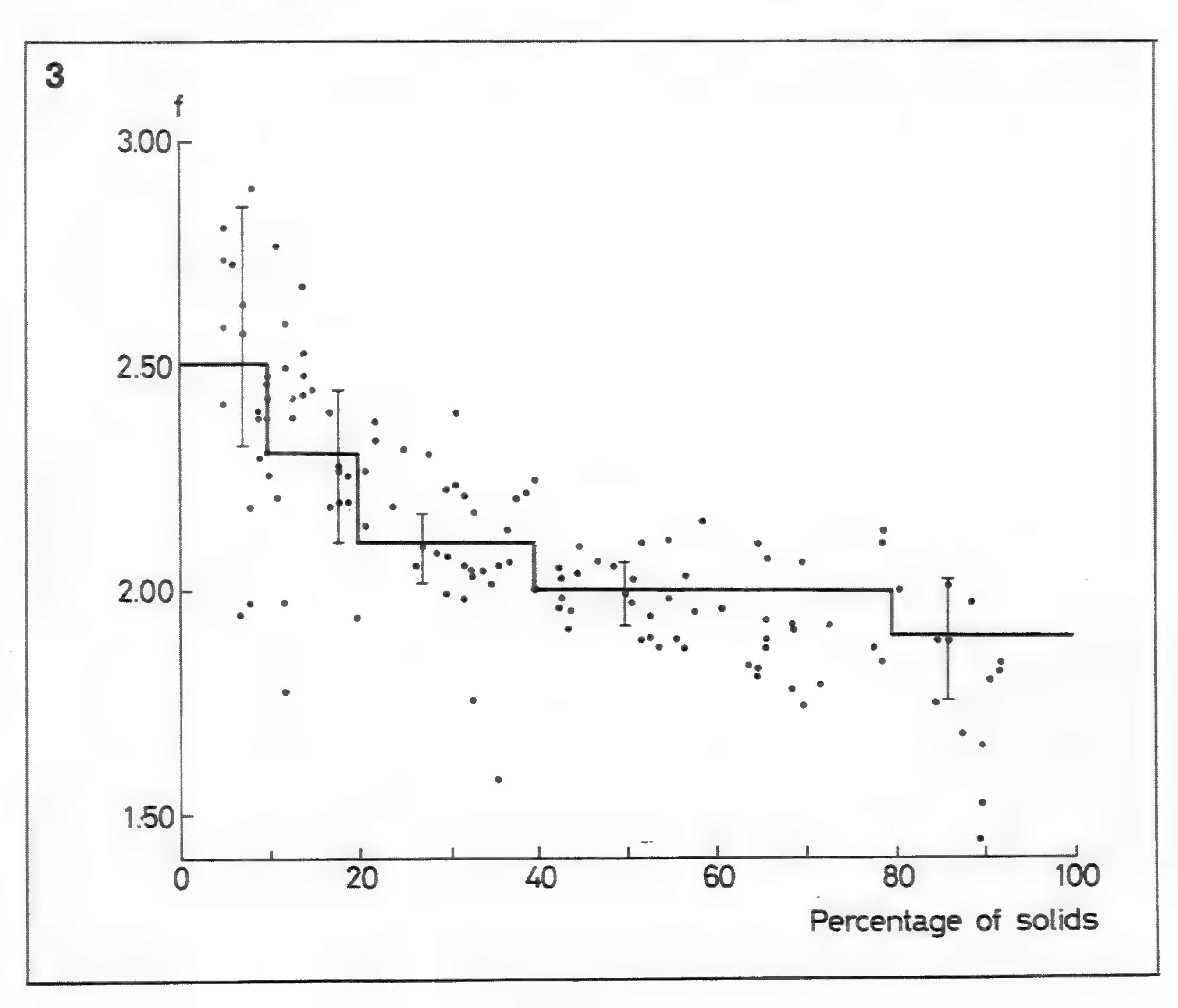


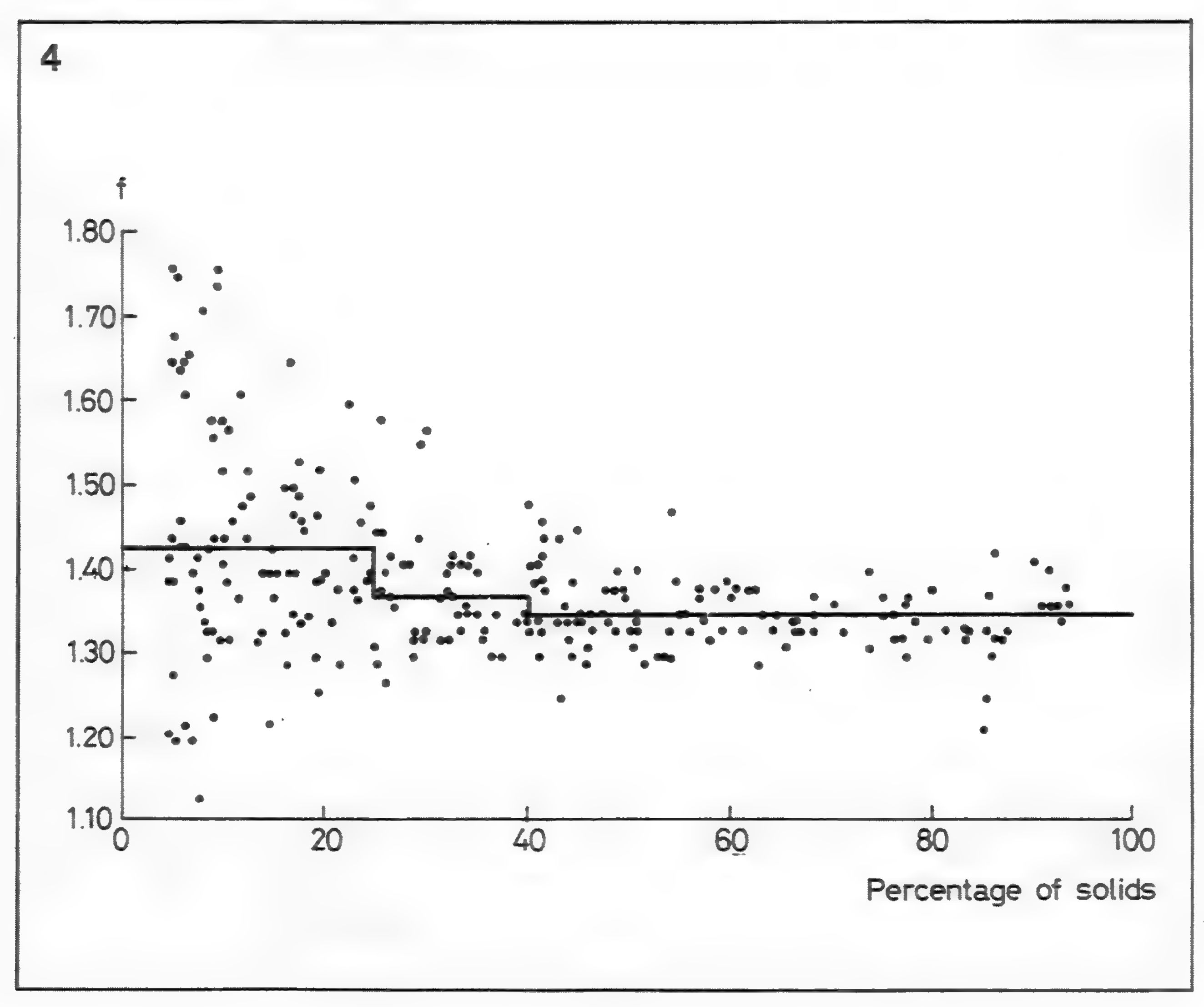
Fig. 3 Factor f of 32 fats between 10 and 45°C as a function of the percentage of solids; dead time 12 μs, pulse width 3 μs.

Table 1
Percentages of solid fat determined with the direct (f= 1.35*) and indirect pulse NMR method and the calculated f-factors

Sample	20°C N^P_{ind}	20°C N^P_{dir}	f	25°C N^P_{ind}	25°C N^P_{dir}	f	30°C N^P_{ind}	30°C N^P_{dir}	f	35°C N^P_{ind}	35°C N^P_{dir}	f
Margarine a	19.5	20.2	1.29	10.3	10.0	1.40	4.1	4.6	1.20	0.1	1.2	–
Margarine b	5.7	6.4	1.19	0.1	0.1	–	2.5	2.9	–	1.5	1.4	–
Palm oil	25.5	26.5	1.28	15.4	15.3	1.36	8.1	8.1	1.35	4.3	4.3	1.35
Coconut oil	29.5	28.3	1.43	0.1	0.1	–	0.7	0.4	–	0.2	0.2	–
Hydrogenated coconut oil 31 C	55.2	54.6	1.38	16.9	16.5	1.39	5.4	5.1	1.43	2.9	3.1	–
Hydrogenated fish oil 37 C	55.8	56.0	1.34	41.6	41.1	1.38	24.5	24.1	1.38	11.3	10.6	1.45
Hydrogenated rapeseed oil 45 C	86.4	86.9	1.29	79.9	80.4	1.31	66.4	66.7	1.33	48.1	47.8	1.37
Hydrogenated olive oil 28 C	29.1	29.7	1.31	14.5	14.1	1.39	4.7	4.9	1.29	0.5	0.6	–
Beef tallow	44.2	44.6	1.33	34.2	34.2	1.35	24.7	24.2	1.39	17.3	16.2	1.46
Palm kernel oil	41.7	40.0	1.45	16.5	15.2	1.49	0.6	0.1	–	0.1	0.3	–
Hydrogenated safflower oil 31 C	58.9	58.6	1.37	34.7	33.7	1.41	9.4	8.3	1.55	0.0	0.1	–
Hydrogenated sunflowerseed oil 34 C	63.5	63.6	1.34	41.7	40.7	1.41	17.2	15.8	1.49	2.7	2.4	–
Hydrogenated groundnut oil 31 C	16.5	16.8	1.32	7.8	7.5	1.41	1.7	2.1	–	0.4	0.1	–
mean** f			1.34			1.37			1.42			1.51

* the direct values in this table correspond with f = 1.35 instead of the mean f = 1.37
** The results of 48 fat samples have been included in the mean f values

Fig. 4 Factor f as function of the percentage of solids; dead time 7 μs; pulse width 3 μs.



Pulsed NMR as a routine method in the fat and margarine industry III

Dr. K. van Putte, Unilever Research, Vlaardingen, The Netherlands



minispec application note 6

Comparison with Dilatometry

Pulsed NMR has proved to be a good alternative for dilatometry [1–5]. Hitherto solid fat determinations have often been based on dilatations, and this technique will continue to be used where pulsed NMR measurements are not economically justified (less than 10 determinations per day). Therefore, accurate conversion equations are necessary to enable the switch to be made from dilatations to pulsed NMR values and vice versa.

The solid fat determination by dilatometry is based on the difference in density between solid and liquid fat. The expansion curve of a fat sample is shown in Fig. 1; the first part represents the expansion of the solid fat, the second part, the expansion of the liquid fat. The unbroken vertical lines represent the dilatations (D) and the dotted lines, the total melting dilatations (D_s). The solid fat content can then be expressed as:

$$\% \text{ solids} = 100\, D_t/(D_{so} + \alpha t) = C_t D_t \quad (1)$$

in which D_t = dilatation at t °C; D_{so} = melting dilatations at 0°C (ml/kg); α = difference in slopes of solid and liquid line. For D_{so} and α of margarine blends and shortenings the values of 65 and 0.44 respectively are normally used. However, the true melting dilatations may vary between 50 and 90 depending upon the nature of the triglycerides. Moreover, the melting point of the remaining solids will increase during melting and hence D will increase more rapidly than is indicated by the factor 0.44.

To investigate the conversion of dilatations into pulse values and vice versa, the relationship was determined between the dilatations and percentages of solids as measured by pulsed NMR of 48 different fats covering the whole range of edible fats. All fat samples were stabilized and tempered in the same way; the melted fats (60°C), in the sample tubes were first kept in melting ice for 90 min and subsequently at each measuring temperature for 30 min in closely fitting holes of a metal block thermostated in a water bath. The dilatations were measured starting at 10°C in steps of 5°C upwards. Based on single dilatation measurements a standard deviation of 1.8 dilatation points (d. p.) is obtained for the whole range. If, on the grounds of other parameters, e. g. melting point, the dilatations deviating by more than 10 d. p. ($\approx$ 10 % solids) from their possible duplicate are rejected, the standard deviation decreases to 1.2 d. p. for a single measurement. We determined the dilatations in duplicate and measured again when the duplicates deviated by more than 1.6 d. p. In this way a standard deviation of 0.3 d. p. was obtained, this being nearly the same as for single pulsed NMR measurements. The pulse values were obtained with the direct pulse method (f = 1.37, one-step function for f) [5]. Assuming D_{so} and α to be independent of the fat composition, we would expect to find at a certain temperature a linear relationship between D and the pulse values:

$$D = R\, N^P + I \ldots \quad (2)$$

in which R = regression coefficient, N^P = percentage of solids according to pulsed NMR and I = intercept. The slopes of the regression lines appear to be strongly temperature-dependent, increasing with the temperature (Fig. 2). This is in agreement with Eq. 1 in which C is temperature-dependent. The regression equations do not pass through the origin, contrary to what would be expected from Eq. 1. The intercepts decrease at increasing temperature, i. e. at decreasing solid fat content (Table 1). This is due to the fact that particularly in the range of high solid fat contents, the increase in dilatation with increasing solid fat content is somewhat smaller than the increase in the percentage of solids as measured by pulsed NMR. The considerable scattering around the regression lines results in much larger standard deviations than can be explained from the measuring accuracies of the two methods. The standard deviations decrease with increasing temperature due to the decreasing solid fat content.

The regression coefficients and intercepts are almost equal for the three pulsed NMR methods, while the standard deviations are somewhat smaller in the case of the indirect method (Table 1). The systematic errors in the solid fat factor may be responsible for the somewhat larger standard deviations although the three-step function ($N^P_{dir(3)}$) gives no improvements.

Fig. 1 Dilatometric curve showing changes in volume with changes in temperature.

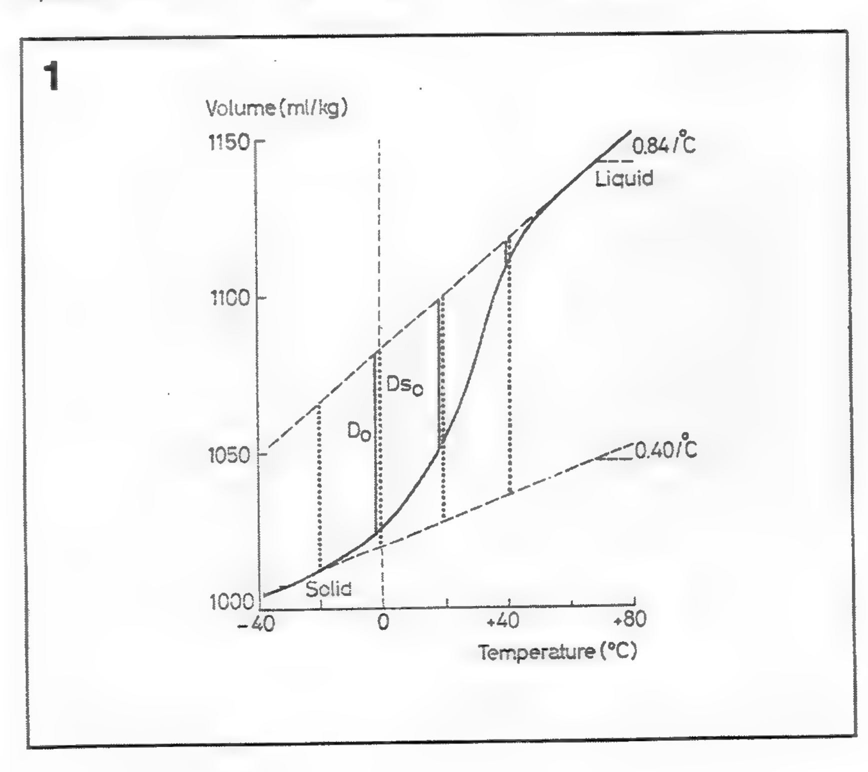


Table 1

Regression equations of the formula $D = RN^p + I$ at different temperatures. The pulse values were determined indirectly (N^p_{ind}) or directly using one-step or three-step functions[5] ($N^p_{dir(1)}$ or $N^p_{dir(3)}$).

Method		Temperature (°C)							
		10	15	20	25	30	35	40	45
N^p_{ind} - D	R	0.699	0.752	0.805	0.861	0.936	1.00	1.05	0.95
	I	2.4	2.3	2.1	1.5	1.5	0.7	0.2	0.0
	σ (d. p.)	2.2	1.8	1.3	1.2	1.2	0.8	0.8	0.5
$N^p_{dir(1)}$ - D	R	0.708	0.758	0.809	0.861	0.940	1.03	1.15	1.21
	I	1.2	1.4	1.6	1.5	1.5	0.9	0.3	0.1
	σ (d. p.)	2.3	1.9	1.5	1.3	1.5	1.2	1.0	0.6
$N^p_{dir(3)}$ - D	R	0.710	0.764	0.820	0.873	0.951	1.04	1.13	1.17
	I	1.4	1.4	1.3	1.2	1.2	0.6	0.2	0.1
	σ (d. p.)	2.3	1.9	1.5	1.5	1.4	1.1	0.9	0.6

References

1. Van Putte, K. and Van den Enden, J., J. Sci. Instrum. (J. Phys. E) 6, 910-912 (1973).
2. Van Putte, K. and Van den Enden, J., J. Amer. Oil Chem. Soc. 51, 316-320 (July 1974).
3. Van Putte, K., Vermaas, L., Van den Enden, J. and Den Hollander, C., to be published.
4. Van Putte, K., Bruker Report I.
5. Van Putte, K., Bruker Report II.

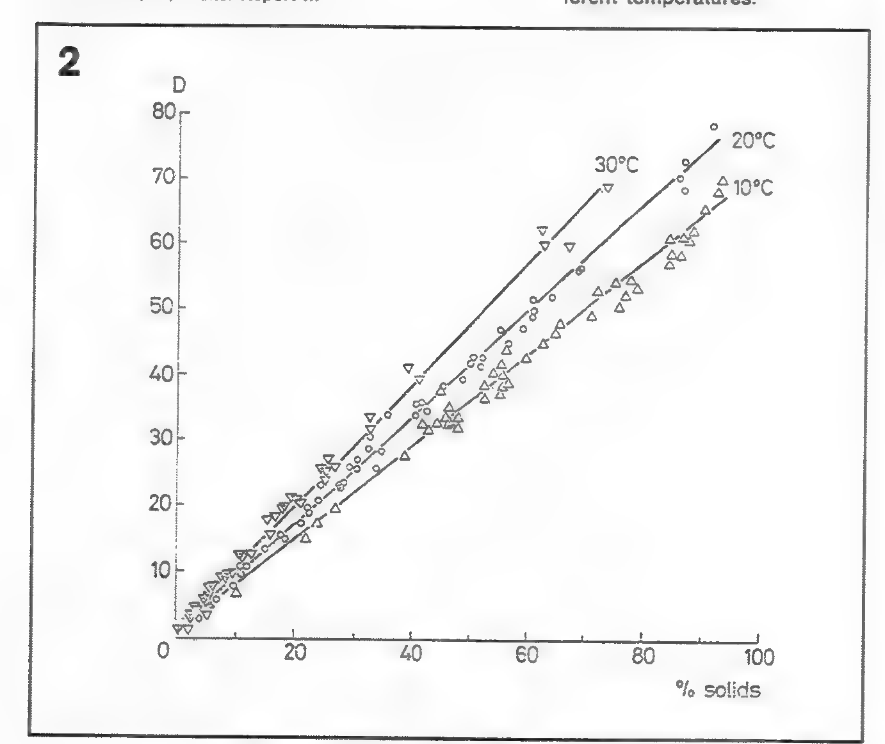


Fig. 2 Relationship between dilatation (D) and percentage of solids obtained by pulsed NMR, at different temperatures.

Table 2

Standard and systematic deviations around the regression lines of the relationships between pulsed NMR values mutual and pulse values and dilatations.

Method	Standard deviation	Systematic deviation
	(% solids)	(% solids)
$N^p_{ind} - N^p_{dir(1)}$	0.74	−0.16
$N^p_{ind} - N^p_{dir(3)}$	0.72	−0.07
$N^p_{ind} - N^p_{dir(8)}$	0.50	−0.06
	(d. p.)	
N^p_{ind} - D	1.40	–
$N^p_{dir(1)}$ - D	1.59	–
$N^p_{dir(3)}$ - D	1.56	–
$N^p_{dir(8)}$ - D	1.52	–

Table 2 shows the standard and systematic deviations around the regression lines interrelating the pulsed NMR methods. The $N^p_{dir(8)}$ values ($N^p_{dir(8)}$ indicates an eight-step function using a mean f at each temperature) agree very well with the N^p_{ind} values, the standard deviation being only slightly higher than what we would expect from the measuring inaccuracies. Here again, the three-step function gives no appreciable improvement compared with the one-step function. The mean systematic deviations in Table 2 are comfortably within the measuring accuracy.

In order to obtain some information about α and D_{so} we included the temperature dependence into the regression equation (Eq. 1):

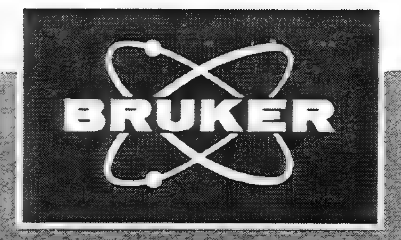
$$N^p_{dir(1)} = 100\,D/(60 + 1.2\,t) - 0.7\,\% \ldots (3)$$

The fan of lines represented by Eq. 3 does not pass through the origin (standard deviation around the regression line is 1.6 d. p. ≈ 1.7 % solids). From comparison of Eq. 3 with Eq. 1, the D_{so} value of 60 is in good agreement with the value of 65 normally used for margarine blends and shortenings. The temperature factor α, however, is larger by a factor of nearly 3 than we would expect. As mentioned before the melting point of the remaining solids will increase during melting so much that the temperature-dependence of D increases by a factor of nearly 3.

The standard deviation (σ) around the regression line (σ ≈ 1.7 % solids) is considerably larger than would be expected from the standard deviations in our dilatations (σ ≈ 0.3 % solids, duplicate measurements) and in the pulse values ($\sigma < 0.3$ % solids, single measurement). To investigate to what extent systematic errors resulting from different f values for the various fat compositions contribute to the standard deviation around the regression line, we compared the indirect pulse values with the dilatations. However, the remaining standard deviation is still 1.4 d. p. (≈1.5 % solids). The step functions for f give only slight improvement relative to the one-step function (Table 2).

Differences in fat composition give rise to differences in D_{so} and α values. The rather large standard deviation must therefore be ascribed to the dependence of D_{so} and α on the fat composition and temperature and not to the inaccuracy in the pulsed NMR measurements. If either pulsed NMR or dilatometry is used for the solid fat determination these systematic errors do not present serious problems. Difficulties may arise only if pulsed NMR values have to be converted into dilatations and vice versa.

To improve the conversion accuracy it will be necessary to split up the different fats into groups with similar fat composition. Preliminary experiments have shown that a considerable improvement is indeed possible. However, the conversion accuracy is nearly the same as that for single dilatation determinations so that in cases where single dilatation determinations are still used, this conversion accuracy is adequate.



NMR Spectroscopy in the Food Industry

Dr. H. Weisser, Institute of Food Process Engineering, University of Karlsruhe, Germany

minispec application note

1. Introduction

Since the 1950's, following the appearance in the United States of the first published results (1) of the application of NMR spectroscopy to study hydration in foodstuffs, the NMR analytical method has been successfully employed throughout the food industry for both research and quality control purposes (2, 3). This article is intended to provide a review of the many uses of NMR spectroscopy in the food sciences, although it must be pointed out that the more chemically oriented structural studies (4), principally those employing ^{13}C spectroscopy (5, 6, 7), have been largely omitted.

2. Main applications of NMR spectroscopy in the food industry

In categorizing the well over one hundred publications in this field, it has been decided to consider them in relation to the most important branches of the industry. It will be seen that some areas such as the edible fat and starch industries make intensive use of NMR spectroscopy, whereas there are other branches in which it would appear that NMR has yet to make an impact.

Meat and Eggs

Some of the earliest publications from Shaw and his co-workers (8, 9) examined the adsorbed water in meat product ingredients such as collagen, gelatine, egg albumin and glycine. Since these early studies, there have been many publications dealing with adsorption in proteins, and the motional behaviour of the adsorbed water (10 - 13; 3).

Also, as many biologists, biochemists and biophysicists are active in this area, publications have appeared describing the use of NMR spectroscopy for structural determination and kinetic studies (14, 15).

When meat is frozen, part of the free or unbound water takes on a rigid structure, leaving the residue solution in a more concentrated form. This results in a noticeable reduction in the value of T_1, the longitudinal relaxation time. A plot of T_1 over the negative temperature range employed, shows two curves of quite different slope. Initially T_1 reduces sharply with fall in temperature until at about −5°C the curve displays a "knee", after which T_1 is less heavily dependent upon temperature drop. Analogous curves are found with samples of liver, fish and apples (16).

Meat contains oil in addition to water. Both ingredients influence the liquid component of the nuclear resonance signal, so that a clear distinction between the water and oil contents is often not possible. With appropriate calibration curves however, it is possible to make rapid determinations of the water content in meat (17). Using continuous wave wide-line NMR spectroscopy on oven-dried samples, the fat content of meat has been determined to within an accuracy of 0.2 to 0.3 % (18, 19). During the specimen preparation, the samples were heated to 70°C to ensure that all fat was molten and could be analysed as oil.

Fish

To date NMR spectroscopy has not been widely employed in the fish industry. The principal applications have been used in the laboratory, for example in studies of the structure of unsaturated fatty acids of fish oils (20). Since it is usual practice today for a great deal of fish to be deep frozen, care has to be taken to keep the drip-losses of the fish to a minimum during the defrosting process. NMR spectroscopy is particularly well suited for studying the influence of present day preparation and conservation methods on the adsorbed water in fish tissues (16, 21, 22) since even at low temperatures (—70°C) a clear differentiation can be made between the free and bound water components.

Milk and Milk Products

NMR spectroscopy has found many applications in the dairy produce industry. Wide-line spectroscopy, and more recently pulse NMR spectroscopy, offer significant advantages over classical time-consuming methods for measurement of the fat and/or water contents in milk and milk products.

Since the presence of water interferes with the measurement of the fat content in cheese, the specimens must be dried quickly following the initial analysis. For this purpose vacuum ovens (23) or microwave ovens (24) are reported as having been used. In this way a direct determination of the dry matter and fat content can be made, and for high water content products, the water content may also be found by comparison with the result from the initial analysis with a "wet" specimen. To date only the use of wide-line spectroscopy has been reported in the literature. However based upon experience of pulse spectroscopy with specimens of a similar nature, the pulse method should offer significant experimental advantages for this work. For example, the pulse method has been used recently to make a rapid determination of the water content in skim milk powder and cottage cheese curds (25). For milk powders with water contents between 1 and 5 %, an accuracy of measurement of 0.2 % water was obtained over a period of 72 seconds. With the cottage cheese where a water content of between 77 and 81 % was present, a measurement time of only 10 seconds was found to be required to obtain an accuracy of 0.3 %. Accuracies comparable with this do not appear to be obtainable with wide-line instruments (26, 27).

The nature and rate of solution of skim and dry milk powders can be elegantly studied by NMR spectroscopy. The NMR analytical technique provides a clear indication of the best reconstitution procedure from all known methods of production (28).

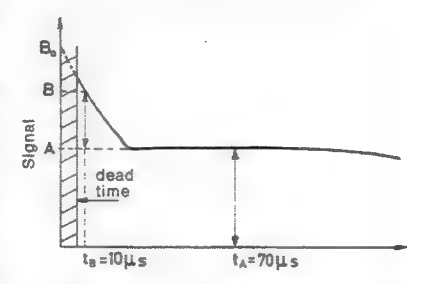
NMR spectroscopy has also found use in determining the iodine value very rapidly, and thereby providing a quick method for monitoring the degree of unsaturation of the triglycerides (29). In comparison with the classical analytical method by Wijs, the NMR method is not only faster but also less prone to error. Moreover, the NMR method provides a means for determining the average molar value of the triglycerides of the butter fat.

The nature of the unsaturated fatty acids in butter fat is influenced by the type of feedstuffs given to the cattle (30). Annual variations in butter texture are noticeable, for example in winter, produce is much harder and more brittle than summer produce which contains more unsaturated fatty acids. In butter production however the "softness" can be determined by appropriate crystallization procedures (31, 32) whereby the time — temperature intervals are accurately controlled during manufacture. This is performed in practice by monitoring the ratio of crystallized fat to liquid fat. There are several reports in the literature of such solid fat content studies (33-37), in which the method of measurement has been developed specifically for the edible fat industry.

Edible Fats and Oils, Oil Seeds

Fats and oils are composed of a mixture of triglycerides of different fatty acids. The triglycerides can crystallize into different crystal modifications (polymorphism), which have quite different melting characteristics depending upon the type of oil. The consistency of fats and oils is therefore critically temperature dependent, and can only be controlled satisfactorily by a suitable analytical method such as NMR. Although the important parameter of the solid fat content can be determined by Dilatometry, Differential Thermal Analysis (DTA) or Differential Scanning Calorimetry (DSC), it can be measured most rapidly by NMR spectroscopy. The first measurements of this type were performed towards the end of the 1950's with wide-line instruments, whereby use was made of the difference in linewidth observed between crystallized and liquid fat (38, 39). Within a year the method had been improved and instruments suitably modified, and NMR became an officially accepted AOCS method. Over the years a number of publications have reported on various aspects of solids content determinations (40-52).

The recent introduction of pulse NMR spectroscopy has brought noticeable advances in both accuracy of measurement and speed of measurement. Collaborative work between van Putte and his co-workers (53-55) and BRUKER PHYSIK AG of Karlsruhe, resulted in the development of the "minispec", the first routine pulse spectrometer available in an industrial version for production control purposes. Earlier editions of this Report have carried descriptions of this instrument (56, 57) and it will be assumed that the principles of operation are well understood. Other authors have also reported elsewhere on successful measurements with the "minispec" and similar instruments (58-60, 35-37).



FID shape in case of determination of a solid to liquid ratio. A suitable extrapolation permits determination of amplitude B_0 from B.

Therefore the solid-to-liquid ratio can be determined from amplitude measurements at times t_B and t_A. (See ref. 53-55)

It is possible to determine the water content in margarine by the pulse NMR method. However since the relaxation times of water and oil do not differ greatly (T_1, $H_2O \approx 1$ sec, T_1, oil ~ 200 msec) it is necessary to dope the water with paramagnetic ions (e.g. copper or magnesium) so that its relaxation time falls to ~ 1 msec to provide a sufficiently large difference to that of the oil (61-63). Both NMR methods have also been used to select suitable emulsifiers for oil/water emulsions (64, 65).

An important application for NMR spectroscopy in the future may well be the replacement of currently employed extraction methods for the determination of fat content in seeds. Fat content in seeds has been measured in minutes without resorting to inflammable solvents or destroying the specimens (66-77). Other reports have shown that since the NMR method is rapid and does not destroy germination in the seed, then it is possible for selection to be made of those living seeds most likely to have the genetic capacity to produce progeny seed of high oil-bearing characteristics. Although the earliest measurements were performed with wide-line instruments, pulse techniques (75, 76) and ^{13}C spectroscopy (77) have recently been employed.

Corn, Cereals, Starch, Sugar

For those foodstuffs rich in carbohydrates, NMR spectroscopy has been successfully employed to determine water content (78-88), and to study bound water (89-94) and solution processes (95-116). In addition ^{13}C spectroscopy has assisted with molecular structure studies (117). Determination of the water content in low fat or fat free foods, such as starch, flour, sugar and sweetmeats, is also relatively straightforward (78-88).

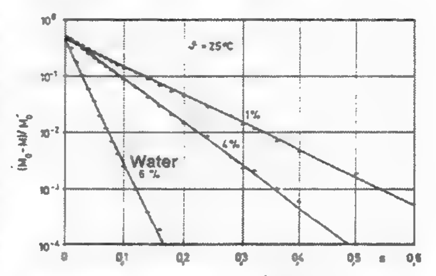
It is however rarely the case that there is a linear relationship between NMR signal strength and water content over a large range of water content values. This is a result of the presence of bound water within the total water content. It is though particularly easy to study bound water with NMR spectroscopy. Moreover temperature studies near the freezing point indicate which part of the water does not freeze out (89-94, 123, 124).

The gelatinization of different starches depends upon the type of starch, and frequently upon the extraction and preparation procedures (95 - 109). Professor H. Lechert and his colleagues at the University of Hamburg have for several years now been examining solution processes in starch by NMR spectroscopic methods (110-116).

Cocoa, Chocolate, Coffee

The presence of minute iron particles from the refining process in cocoa liquor may be as high as several hundred ppm. This results in a drastic broadening of the NMR linewidth and thereby prevents the accurate measurement of fat content in cocoa and chocolate by wide-line spectroscopy (118, 119). Pulse NMR methods however are able to remove the influence of iron contamination on the accuracy of fat content analysis. Using pulse techniques the fat content of cocoa and chocolate samples has been measured within a few minutes to an accuracy of ± 0.2% (120).

In raw coffee, both water and fat (coffee oil) are present in large quantities. With suitable pulse NMR procedures, direct measurements have been made of the water and oil content (121). In addition, because of the rapid measurement time it is possible to control the roasting process to a higher degree.



Determination of water content from observed longitudinal relaxation. The example shows the dependence of T_1 on water concentration in coffee concentrate. (See ref. 121)

Miscellaneous

NMR appears to offer advantages over pyknometry for alcohol determination in wine, beer and spirits. By integrating the peak amplitude of the $-CH_3-$ group before and after addition of a known quantity of alcohol, it was found possible to determine the alcohol content over a range of 0 to 80 vol.% to within ± 3% accuracy over a period of 5 to 10 min (122).

3. References

1. Shaw, T. M., and R. H. Elsken: Nuclear magnetic resonance absorption in hygroscopic materials. **J. Chem. Phys. 8** (1950) 1113/114.

2. Kohn, R.: Anwendung der Kernresonanz-Spektroskopie in der Lebensmittelanalytik. **Fette, Seifen, Anstrichmittel 68** (1966) Nr. 10, S. 795/98.

3. Weisser, H.: Anwendung der Kernresonanzspektroskopie in der Lebensmittelverfahrenstechnik. **Z. f. Lebensmittel-Technologie und -Verfahrenstechnik 28** (1977) Nr. 3, S. 97/101.

4. Foltz, A. K., J. A. Yeransian und K. G. Sloman: Food. **Analytical Chem. 49** (1977) Nr. 5, S. 194 R/220 R.

5. Vincent, E.-J.: Introduction à la R.M.N. du carbone 13.**Rev. française des Corps Gras 21** (1974) No. 12, p. 699/703.

6. Bus, J., I. Sies and M. S. F. Lie Ken Jie: ^{13}C-NMR of double and triple bond carbon atoms of unsaturated fatty acid methyl esters. **Chem. Phys. Lipids 18** (1977) 130/44.

7. Shapiro, Yu. E., A. V. Viktorov, V. I. Volkova et al: ^{13}C NMR investigation of phospholipid membranes with the aid of shift reagents. **Chem. Phys. Lipids 14** (1975) 227/32.

8. Shaw, T. M., and K. J. Palmer: Nuclear magnetic resonance adsorption in proteins. **Phys. Rev. 83** (1951) 213.

9. Shaw, T. M., and R. H. Elsken: Investigation of proton magnetic resonance line width of sorbed water. **J. Chem. Phys. 21** (1953) 565/66.

10. Berendsen, H. J.: Nuclear magnetic resonance study of collagen hydration. **J. Chem. Phys. 36** (1962) 3297/3305.

11. Abezedarskaya, L. A., F. G. Miftakhutdinova, V. D. Fedotov et al: Proton relaxation in some protein solutions and gels. **Molecular Biology (New York) Vol. 1** (1967) Nr. 4, pp. 381/90.

12. Kimmich, R., u. F. Noack: Zur Deutung der kernmagnetischen Relaxation in Proteinlösungen. **Z. Naturforsch. 25 a** (1970) Nr. 11, S. 1680/84,

13. James, Th. L., and K. T. Gillen: Nuclear magnetic relaxation time and self-diffusion constant of water in hen egg white and yolk. **Biochem. Biophys. Acta 286** (1972) 10/15.

14. McDonald, G. G., and J. M. Vanderkooi: Application of pulsed-gradient fourier transform nuclear magnetic resonance to the study of self-diffusion of phospholipid vesicles. **Biochem. 14** (1975) 2125/7.

15. Wüthrich, K.: NMR in biological research: Peptides and Proteins. **Amsterdam, New York: North-Holland Publ. Co.** (1976).

16. Chernyshev, V. M., A. F. Babkin, T. N. Golovkina et al: Use of Nuclear Magnetic Proton Relaxation to Characteristic Deep Freezing of Food. (Original in Russian). **Cholodiln. Techn.** (1974) No. 4, p. 30/35.

17. Steffa, R. K., C. A. Blanck, E. Wierbicki et al: Application of nuclear magnetic resonance in meat research. **Food Res. 24** (1959) 210/17.

18. Casey, J. C., and C. A. Miles: Determination of the fat content of meat using nuclear magnetic resonance. **J. Sci. Food Agric. 25** (1974) 1151/61.

19. Nilsson, R., and K. Kolar: Rapid physical methods for the determination of the fat content in meat and meat products. (Original in Swedish). **Livsmedelsteknik 16** (1974) No. 6, p. 258/62.

20. Hashimoto, T., K. Nukada, H. Shiina et al: On the structure of highly unsaturated fatty acids of fish oils by high resolution nuclear magnetic resonance spectral analysis. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 40** (1963) 124/28.

21. Sussman, M. V., and L. Chin: Liquid water in frozen tissue: study by nuclear magnetic resonance. **Science 151** (1966) 324/25.

22. Suzuki, T., and M. Takeuchi: Examination of physical states of water in fish muscle by means of NMR (Original in Japanese). **J. of Food Sci. and Technol. (Japan) 17** (1970) p. 110/12.

23. Kern, P., R. Sieber u. P. Rüst: Versuche zur Bestimmung des Fett- und Wassergehaltes in Käse unter Verwendung eines Kernresonanzgerätes für die Fettbestimmung. **Schweizerische Milchwirtschaftl. Forschung 3** (1974) Nr. 1, S. 6/8.

24. Moisio, T., E. Timonen and M. Kreula: A rapid method for the determination of the dry matter and fat content of cheese and processed cheese. **Milchwissenschaft 27** (1972) Nr. 2, S. 73/75.

25. Hester, R. E., and D. E. C. Quine: Quantitative analysis of food products by pulsed NMR. I. Rapid determination of water in skim milk powder and cottage cheese curds. **J. Food Technol. 11** (1976) 331/39.

26. Palmer, K. J., and R. H. Elsken: Determination of water by nuclear magnetic resonance in hygroscopic materials containing soluble solids. **J. Agr. Food Chem. 4** (1956) 165/67.

27. Berridge, N. J., E. Crean and P. B. Mansfield: Low resolution nuclear magnetic resonance in the determination of moisture in cheese curd. **J. Dairy Res 37** (1970) 407/16.

28. Samuelsson, E. G., u. B. Hueg: Nuclear magnetic resonance (NMR) as a method for measuring the rate of solution of dried milk. **Milchwissenschaft 28** (1973) Nr. 6, S. 329/32.

29. Nielsen, L. V.: Studies on the relationship between unsaturation and iodine value of butterfat by high resolution nuclear magnetic resonance (NMR). **Milchwissenschaft 31** (1976) Nr. 10, S. 598/602.

30. Wood, F. W., M. F. Murphy and W. L. Dunkley: Influence of elevated polyunsaturated fatty acids on processing and physical properties of butter. **J. Dairy Sci. 58** (1975) 839/45.

31. van Beresteyn, E. C. H.: Polymorphism in milk fat in relation to the solid / liquid ratio. **Neth. Milk. Dairy J. 26** (1972) 117/30.

32. Walstra, P., and E. C. H. van Beresteyn: Crystallization of milk fat in the emulsified state. **Neth. Milk. Dairy J. 29** (1975) 35/65.

33. Samuelsson, E. G., and J. Vikelsøe: Estimation of the amount of liquid fat in cream and butter by low resolution NMR. **Milchwissenschaft 26** (1971) Nr. 10, S. 621/25.

34. Babkin, A. F., V. A. Matvejew, A. K. Avakumov et al: Instrumental effects on the determination of the solid fat content in milk fat by means of NMR (Original in Russian). **Pistschew. Technolog.** (1976) No. 6, p. 130/33.

35. Makarenko, W. L., A. D. Grischtschenko, A. K. Avakumov et al: Determination of solid and liquid phases in milk fat by means of the Pulse-NMR Method (Original in Russian). **Pistschew. Technol.** (1975) No. 1, p. 72/74.

36. Meriläinen, V., and A. Antila: Pulsed NMR for determination of the solid-liquid ratio in milk fat and butter (Original in Finnish). **Meijeritieteellinen Aikakauskirja 34** (1976) p. 117/35.

37. Jönsson, H., and K. Andersson: Study of the crystallization behaviour of butterfat with pulse NMR. **Milchwissenschaft 31** (1976) Nr. 10, S. 593/98.

38. Chapman, D., R. E. Richards and R. W. Yorke: Liquid/solid content of fats. **Nature 183** (1959) 44.

39. Chapman, D., R. E. Richards and R. W. Yorke: A nuclear magnetic resonance study of the liquid/solid content of margarine fat. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 37** (1960) 243/46.

40. Taylor, J. R., W. D. Pohle and R. L. Gregory: Measurement of solids in triglycerides using nuclear magnetic resonance spectroscopy. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 41** (1964) 177/80.

41. Pohle, W. D., J. R. Taylor and R. L. Gregory: A comparison of nuclear magnetic resonance and dilatometry for estimating solids content of fats and shortenings. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 42** (1965) 1075/78.

42. Pohle, W. D., and R. L. Gregory: Standardization of nuclear magnetic resonance measurement of solids in fats and shortenings. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 44** (1967) 397/99.

43. Bosin, W. A., and R. A. Marmor: The determination of the solids content of fats and oils by nuclear magnetic resonance. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 45** (1968) 335/37.

44. Walker, R. C., and W. A. Bosin: Comparison of SFI, DSC and NMR methods for determining solid-liquid ratios in fats. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 50/53.

45. Mansfield, P. B.: A new wide-line NMR analyzer and its use in determining the solid-liquid ratio in fat samples. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 4/6.

46. Haighton, A. J., L. F. Vermaas and C. den Hollander: Determination of the solid-liquid ratio of fats by wide-line nuclear magnetic resonance. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 7/10.

47. Wettström, R. B.: Wide-line NMR for product and process control in fat industries. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 15/17.

48. Mertens, W. G., and J. M. de Man: The influence of temperature treatment on solid-liquid ratios of fats determined by wide-line NMR. **Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 5** (1972) 77/81.

49. Swindells, C. E., and P. A. Ferguson: Measurement of the solids content of fats by nuclear magnetic resonance. **Can. Inst. Food Sci. Technol. J. 5** (1972) 82/86.

50. Haighton, A. J., K. van Putte, and L. F. Vermaas: Determination of the solid contents of fats by wide-line nuclear magnetic resonance: The signal of liquid oils. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 49** (1972) 153/56.

51. Sambuc, E., et M. Naudet: Sur la détermination de la teneur en solide des graisses telles quelles et des margarines. **Rev. française des Corps Gras 21** (1974) No. 5, p. 309/12.

52. Sambuc, E., and M. Naudet: Relation between practical rheological properties of margarines and physical characteristics of their fatty base. **Dechema-Monographien 77** (1974) Nr. 1505/1536, S. 351/61.

53. van Putte, K., and J. van den Enden: Pulse NMR as a quick method for the determination of the solid fat content in partially crystallized fats. **J. of Phys. E.: Sci. Instr. 6** (1973) 910/12.

54. van Putte, K., and J. van den Enden: Fully automated determination of solid fat content by pulsed NMR. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 51** (1974) 316/20.

55. van Putte, K., L. Vermaas, J. van den Enden et al: Relations between pulsed NMR, wide-line NMR, and dilatometry. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 52** (1975) 179/81.

56. van Putte, K.: Puls NMR as a routine method in the fat and margarine industry. Part I - II. **Bruker Report 4** (1974) Nr. 1, S. 5/6; **5** (1975) Nr. 1, S. 9/12.

57. McCarten, J.: Fettanalyse an Ausgangsstoffen zur Margarineherstellung. **Bruker Report 3** (1973) Nr. 2, S. 5/6.

58. Weisser, H., Th. Lasar und M. Loncin: Bestimmung der festen und flüssigen Bestandteile des Palmöls in Abhängigkeit von den Kristallisationsbedingungen durch Messung der magnetischen Kernresonanz. **Fette, Seifen, Anstrichmittel 77** (1975) Nr. 12, S. 480/86.

59. Geldner, G.: Untersuchungen von Fetten mittels Dilatometrie und kernmagnetischer Impulsspektroskopie. **Diplomarbeit Universität Karlsruhe** (1975).

60. Templeman, G. J.: Evaluation of several pulsed NMR techniques for solids-in-fat determination of commercial fats. **J. Food Sci. 42** (1977) 432/35.

61. Suzuki, T., O. Kamo, H. Toyama et al: Determination of the solid fat and water content in margarine by means of high resolution NMR (Original in Japanese). **J. of Japan Oil Chemists' Soc. (Yukagaku) 19** (1970) p. 1019/24.

62. Mansfield, P. B., and C. A. Horn: The determination of moisture in margarines: a comparison of results obtained by several methods including wide-line nuclear magnetic resonance. **J. Food Technol. 7** (1972) 53/61.

63. Sambuc, E., G. Reymond et M. Naudet: Sur l'emploi de la résonance magnétique nucléaire à large bande pour l'étude de la consistance des margarines. **Rev. française des Corps Gras 19** (1972) No. 10, p. 613/27.

64. Shanbhag, S., M. P. Steinberg and A. I. Nelson: Determination of oil in aqueous emulsion by wide-line NMR. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 11/14.

65. Trumbetas, J., J. A. Fioriti and R. S. Sims: Application of pulsed NMR to fatty emulsions. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 53** (1976) 722/26.

66. Conway, T. F., and F. R. Earle: Nuclear magnetic resonance for determining oil content of seeds. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 40** (1963) 265/68.

67. Bauman, J. F., T. F. Conway and S. A. Watson: Inheritance of variations in oil content of individual corn (Zea mays L.) kernels. **Crop Sci. 5** (1965) 137/38.

68. Alexander, D. E., L. Silvela, F. I. Collins et al: Analysis of oil content of maize by wide-line NMR. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 44** (1967) 555/58.

69. Collins, F. I., D. E. Alexander, R. C. Rodgers et al: Analysis of oil content of soybeans by wide-line NMR. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 44** (1967) 708/10.

70. Conway, T. F., and L. F. Johnson: Nuclear magnetic resonance measurement of oil "unsaturation" in single viable corn kernels. **Science 164** (1969) 827/28.

71. Wolff, J. P., A. Karleskind et G. Valmalle: Dosage de l'huile dans les graines oléagineuses par résonance magnétique nucléaire. **Rev. française des Corps Gras 17** (1970) No. 3, p. 165/71.

72. Conway, T. F.: A wide-line NMR R-F saturation method to measure fat in moist samples of defatted corn germ. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 54/58.

73. Tolnay, L., and K. Tompa: Proton magnetic resonance studies on vegetable oils and seeds. **Acta Agronom. Sci. Hungaricae 22** (1973) 55/58.

74. Madsen, E.: Nuclear magnetic resonance spectrometry as a quick method of determination of oil content in rapeseed. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 53** (1976) 467/69.

75. Tiwari, P. N., P. N. Gambhir and T. S. Rajan: Rapid and nondestructive determination of seed oil by pulsed nuclear magnetic resonance technique. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 51** (1974) 104/9.

76. Schtscherbakov, V. G., E. I. Kuptschenko and E. X. Aspiotis: Determination of the oil content in different seeds by the Spin Echo Method (Original in Russian) **Pistschew. Technol.** (1973) No. 2, p. 122/24.

77. Schaefer, J., and E. O. Stejskal: Carbon-13 nuclear magnetic resonance measurement of oil composition in single viable soybeans. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 51** (1974) 210/13.

78. Shaw, T. M., R. H. Elsken and C. H. Kunsman: Moisture determination of foods by hydrogen nuclei magnetic resonance. **J. Assoc. Offic. Agr. Chemists 36** (1953) 1070/76.

79. Conway, T. F., R. F. Cohee and R. J. Smith: NMR moisture analyser shows big potential. **Food Engng. 29** (1957) 80/82.

80. Conway, T. F., R. F. Cohee and R. J. Smith: A new method of "moisture determination". **Mfg. Confectioner 37** (1957) 27/34.

81. Rubin, H.: New tool for moisture analysis. Nuclear magnetic resonance. **Cereal Sci. Today 3** (1958) 240/43.

82. Miller, B. S., and H. D. Kaslow: Determination of moisture by nuclear magnetic resonance and oven methods in wheat, flour, doughs and dried fruits. **Food Technol. 17** (1963) 650/53.

83. Rollwitz, W. L.: Moisture measurements in various hygroscopic materials using nuclear magnetic resonance. In: A. Wexler: Humidity and Moisture. 4 vols. **New York: Reinhold Publ. Co.** (1965); particularly Vol. 2, pp. 137/47.

84. Hall, G. E., J. G. Lawrence and R. J. Simpson: Nuclear magnetic resonance as a method for continuously monitoring rehydration. **Nature 216** (1967) 474/75.

85. Pohle, W. D., and R. L. Gregory: Application of wide-line NMR to analysis of cereal products and fats and oils. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 45** (1968) 775/77.

86. Simpson, R. J.: The use of nuclear magnetic resonance for the determination of moisture and liquid fat content. **Measurement and Control 1** (1968) 82/83.

87. Rollwitz, W. L., and G. A. Persyn: Onstream NMR measurements and control. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 48** (1971) 59/66.

88. Brosio, E., F. Conti, C. Lintas et al: Moisture determination in starch-rich food products by pulsed nuclear magnetic resonance. **Submitted to Journ. of Food Technology**

89. Toledo, R., M. P. Steinberg and A. I. Nelson: Quantitative determination of bound water by NMR. **J. Food Sci. 33** (1968) 315/17.

90. Shanbhag, S., M. P. Steinberg and A. I. Nelson: Bound water defined and determined at constant temperature by wide-line NMR. **J. Food Sci. 35** (1970) 612/15.

91. Ogiwara, Y., H. Kubota, S. Hayaschi et al: Temperature dependency of bound water of cellulose studied by a high-resolution NMR spectrometer. **J. of Applied Polymer Science 14** (1970) 303/09.

92. Mousseri, J., M. P. Steinberg, A. I. Nelson et al: Bound water capacity of corn starch and its derivatives by NMR. **J. Fd. Sci. 39** (1974) 114/16.

93. Steinberg, M. P., and H. Leung: Some applications of wide-line and pulsed NMR in investigations of water in foods. In: Water relations of foods. Int. Symp. Glasgow (Sept. 1974); R. B. Duckworth. **London, New York, San Franzisko: Academic Press** (1975).

94. Leung, H. K., M. F. Steinberg, L. S. Wei and A. I. Nelson: Water binding of macromolecules determined by pulsed NMR. **J. Food Sci. 41** (1976) 297/300.

95. Collison, A., and M. P. McDonald: Broadening of the water proton line in high-resolution nuclear magnetic resonance spectra of starch gels. **Nature 186** (1960) 548/49.

96. Sterling, C., u. M. Masuzawa: Gel/water relationships in hydrophilic polymers: Nuclear magnetic resonance. **Makromol. Chemie 116** (1968) 140/45.

97. Casu, B., G. G. Gallo, M. Reggiani et al: Applications of magnetic resonance spectroscopy of the hydroxyl protons to the analysis of starch-derived products. **Stärke 20** (1968) 387/91.

98. Woessner, D. E., B. S. Snowden jr., and Y. C. Chiu: Pulsed NMR study of the temperature hysteresis in the agar-water system. **J. Coll. a. Interf. Sci. 34** (1970) 283/89.

99. Woessner, D. E., and B. S. Snowden jr.: Pulsed NMR study of water in agar gels. **J. Coll. a. Interf. Sci. 34** (1970) 290/99.

100. Fedotow, V. D., F. G. Miftachutdinova, Sch. F. Murtasin: Investigation of proton relaxation in live plant tissues by the spin echo method. **Biophysics 14** (1969) 918/28.

101. Jaska, E.: Starch gelatinization as detected by proton magnetic resonance. **Cereal Chem. 48** (1971) 437/444.

102. Wolarowitsch, M. P., N. I. Gamajunow and L. Ju. Wassilewa: Determinations of water adsorption by the Pulse NMR Spin-Echo Method (Original in Russian). **Kolloidnyi Schurnal (Colloid Journal) 33** (1971) No. 6, p. 922/23.

103. Tait, M. J., S. Ablett and F. Franks: An NMR investigation of water in carbohydrate systems. Water structure, Water Polymer Interface, Proc. Symp. Editor: H. H. G. Jellinek. **New York: Plenum Press** 1972 (see p. 29/38).

104. Child, T. F., and N. G. Pryce: Steady-state and pulsed NMR studies of gelation in aqueous agarose. **Biopolymers 11** (1972) 409/29.

105. Duckworth, R. B.: The properties of water around the surfaces of food colloids. **Proc. Inst. Food Sci. Techn. 5** (1972) 60/67.

106. Duckworth, R. B., and C. E. Kelly: Studies of solution processes in hydrated starch and agar at low moisture levels using wide-line nuclear magnetic resonance. **J. Food Technol. 8** (1973) 105/13.

107. Heger, R.: Sorptionsverhalten von Stärke und Dextrangel Sephadex unter Verwendung von Additiven im Bereich der Wasseraktivität von aw = 0,75 bis 1,0. **Diplomarbeit Universität Karlsruhe** (1974).

108. Fedin, E. I., V. G. Tsitsishvili, V. Ya. Grinberg et al: A study of dextran hydration in dilute, aqueous solution by the proton magnetic relaxation method. **Carbohydrate Research 39** (1975) S. 193/99.

109. Lelievre, J., and J. Mitchell: A pulsed NMR study of some aspects of starch gelatinization. **Stärke 27** (1975) 113/15.

110. Basler, W., u. H. Lechert: Kernresonanzuntersuchungen an Wasser in Stärkegelen bei 295 K. **Stärke 25** (1973) Nr. 9, S. 289/92.

111. Basler, W., u. H. Lechert: Diffusion von Wasser in Stärkegelen. **Stärke 26** (1974) Nr. 2, S. 39/42.

112. Hennig, H. J., u. H. Lechert: Messungen der magnetischen Relaxationszeiten der Protonen in nativen Stärken mit verschiedenen Wassergehalten. **Stärke 26** (1974) Nr. 7, S. 232/37.

113. Hennig, H. J., H. Lechert u. B. Krische: Kernresonanzuntersuchungen zum Einfluß der technischen Aufarbeitung auf die Wasserbindungsfähigkeit von Kartoffelstärke. **Stärke 27** (1975) Nr. 5, S. 151/54.

114. Hennig, H. J., H. Lechert u. W. Goemann: Untersuchung des Quellverhaltens von Stärke mit Hilfe der Kernresonanz-Impuls-Spektroskopie. **Stärke 28** (1976) Nr. 1, S. 10/13.

115. Lechert, H.: Möglichkeiten und Grenzen der Kernresonanz-Impuls-Spektroskopie in der Anwendung auf Probleme der Stärkeforschung und Stärketechnologie. **Stärke 28** (1976) Nr. 11, S. 369/73.

116. Hennig, H. J.: Kernmagnetische Resonanzuntersuchungen zur Rolle der Wasserbindung für die Struktur des nativen Stärkekorns. **Stärke 29** (1977) Nr. 1, S. 1/4.

117. Voelter, W., V. Bilik und E. Breitmaier: Konfigurations- und Mutarotationseinflüsse auf die ^{13}C-NMR Spektren einiger Disaccharide. **Coll. Czechoslov. Chem. Commun. 38** (1973) S. 2054/71.

118. Oref, I.: Fat content and liquid-to-solid ratio of chocolate by wide-line nuclear magnetic resonance. **J. Am. Oil. Chem. Soc. 42** (1965) 425/27.

119. Wiggall, P. H., A. D. Ince and E. Walker: The rapid determination of fat in chocolate and related products using low resolution nuclear magnetic resonance. **J. Food Technol. 5** (1970) 353/62.

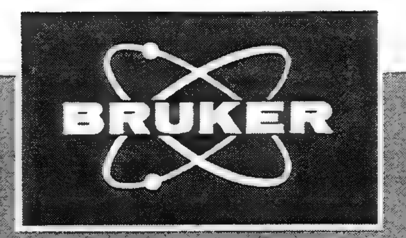
120. McCarten, J.: Determination of the fat content and solid-to-liquid ratio in cocoa products with the minispec p 20 NMR process analyser. **Prospekt der Fa. Bruker Physik.**

121. Messer, R.: Untersuchungen zur Wasserbindung an zerkleinertem Rohkaffee mit Hilfe der gepulsten NMR-Spektroskopie. **Diplomarbeit Universität Karlsruhe** (1977).

122. Anders, U., F. Tittgemeier u. G. Hailer: ^{1}H-NMR Bestimmung von Äthanol in Wein, weinähnlichen Getränken und Spirituosen. **Z. Lebensm. Unters.-Forschung 162** (1976) Nr. 1, S. 21/24.

123. Golovkin, N. A., I. P. Birjukow and A. F. Babkin: Investigation of foods with the aid of the Spin-Echo-NMR Method (Original in Russian). **Pistschew. Technol.** (1972) No. 2, p. 160/63.

124. Mank, V. V., F. D. Ovtscharenko, E. G. Krotow et al: Determination of the behaviour of water in green beans at low temperatures using the NMR method (Original in Russian). **Pistschew. Technol.** (1975) No. 1, p. 41/43.



Determination of the Solid Phase Content in Fats using the BRUKER minispec p 20 i

Dr. David Waddington · Unilever Research Laboratory · Colworth House · Shambrook · Bedfordshire, England

1. INTRODUCTION:

In recent years many workers have devoted considerable attention to the examination of nuclear magnetic resonance (n.m.r.) techniques for the determination of the solids content in fats (1–5). The aim of these studies has been, in general, to devise a more efficient, rapid, and straight-forward method of fat characterisation than that provided by the hitherto extensively used dilatation technique (6). It is not the intention here to review the entire field, nor to compare and contrast the different n.m.r. techniques examined (7), but rather to indicate the approach taken by Unilever in order to devise a method suitable for routine process monitoring in factories.

In a previous series of BRUKER Reports (3, 8, 9) van Putte has given a detailed account of the development of a method for solids content determination by pulse n.m.r. techniques. The purpose of this Report is to describe the method for the determination of solid phase content currently in use in Unilever factories (7) throughout the world.

The basic requirements for a method for solid phase determination which could replace the dilatation technique are set out in Figure 1.

The pulse n.m.r. technique has been selected, following an examination of all other available methods, since this technique was considered best able to meet the aforementioned criteria. This should not be considered as a criticism of the continuous wave n.m.r. technique (1–5), which was also examined and which has found many valuable applications in food research.

Before setting out to describe the principles of the pulse n.m.r. technique as applied to the determination of the solid phase content of oils and fats, some indication should be given of the broad types of fats for which this technique can be used. For the purpose of this article the fats most frequently examined by dilatometry can be divided into two groups. These are indicated in Figure 2.

To Group 1 belong the margarine and cocoa butter replacer (CBR) fats, whilst Group 2 comprises those fats commonly used as cocoa butter equivalents (or extenders) (CBE).

FIGURE 1.

BASIC REQUIREMENTS FOR A METHOD FOR SOLID PHASE DETERMINATION FOR PROCESS MONITORING

- MUST BE VERY REPRODUCIBLE
- MUST BE EASY TO OPERATE AND NOT REQUIRE A HIGHLY TRAINED OPERATOR
- MUST BE SUFFICIENTLY RAPID TO ALLOW A LARGE NUMBER OF SAMPLES TO BE MEASURED PER DAY
- MUST ALLOW SAMPLES TO BE MEASURED AT ANY SELECTED TEMPERATURE AND VALUES SO OBTAINED MUST NOT BE DEPENDENT ON OTHER TEMPERATURES USED FOR MEASUREMENT I. E. A PARALLEL METHOD
- MUST NOT BE NECESSARY TO WEIGH SAMPLES
- MUST IDEALLY USE DISPOSABLE TUBES
- MUST BE STRAIGHTFORWARD TO CALIBRATE; CALIBRATION SHOULD BE A RAPID PROCESS
- MUST BE VERY RELIABLE

2. THE PULSE N.M.R. METHOD:

When a sample containing protons is placed in a powerful magnetic field the protons, behaving like tiny magnets, tend to align along the field direction (10). If now a second magnetic field is applied at right angles to the first field, in the form of a pulse of radio frequency radiation, then the alignment of the protons is changed by 90°. The energy supplied to the protons to change their orientation in the first magnetic field provides the driving force for certain relaxation processes which permit the transfer of energy from the protons to the surrounding lattice or between the individual protons themselves. It is this latter process which is of importance in the solid phase determination.

The rate at which the protons exchange their energy, the rate at which the system relaxes, may be characterised by a relaxation time, T_2 (the spin-spin relaxation time), which will be different for protons in the solid phase from protons in the liquid phase. Thus, for a solid, the protons exchange their energy rapidly because of the short

FIGURE 2.

FAT GROUPINGS USED

GROUP 1: MARGARINE AND CBR (COCOA BUTTER REPLACER)

THESE ARE FATS WHICH CRYSTALLISE IN THE BETA PRIME POLYMORPHIC FORM AND WHICH DO NOT NEED EXTENDED STABILISATION. THE CBR FATS MAY BE CONSIDERED AS A SUBGROUP SINCE THESE ARE THOSE FATS HAVING THE EXTRA RESTRICTION THAT THE SOLIDS CONTENT AT 20°C MUST BE GREATER THAN 25 % AND AT 35°C MUST BE LESS THAN 25 %.

GROUP 2: CBE (COCOA BUTTER EQUIVALENT)

TO THIS GROUP BELONG THE HARD BUTTERS WHICH CRYSTALLISE IN THE BETA POLYMORPHIC FORM, SUCH AS COCOA BUTTER, AND WHICH CONTAIN APPRECIABLE QUANTITIES OF 2-OLEO-DISATURATED GLYCERIDES.

distances between the protons in the rigid lattice which facilitates energy transfer. For liquids, however, the distance between protons is larger and there is no rigid lattice, consequently relaxation takes a longer time.

The observed signal induced in the receiver coil of a pulse spectrometer following the application of a 90° pulse for a mixture of solid and liquid fat is illustrated in Figure 3.

The initial signal height following the pulse is proportional to the total number of protons in both solid and liquid phases since no relaxation has occurred. If the magnitude of the signal from the solid phase is S_s and the magnitude of the signal from the liquid phase is S_l, then the initial signal amplitude is $(S_s + S_l)$. After a period of 70 µs any signal from the solid phase will have fallen to less than 1% of its initial value. Consequently, the magnitude of the signal 70 µs after the pulse will be proportional to the total number of protons in the liquid phase S_l. Now the percentage of solid phase in the sample is given by: –

$$\% \text{ solid phase} = \frac{(\text{number of protons in solid phase}) \times 100}{(\text{total number of protons in sample})} \quad (1)$$

$$= 100\, S_s / (S_s + S_l) \quad (2)$$

Following the application of a powerful radio frequency pulse, the receiver circuit of the spectrometer requires a certain time, called the 'dead time', for recovery. It is thus not possible, in practice, to measure the solid plus liquid signal level $(S_s + S_l)$ immediately after the pulse. It will be clear from Figure 3 that it is only possible to measure the signal level at point A following recovery of the receiver circuit. This signal level is $(S'_s + S_l)$. If it is assumed that there is a fixed relationship between the initial solid signal level S_s and the signal level after the dead time S'_s then: –

$$S_s = fS'_s \quad (3)$$

where f is a correction factor for the dead time refered to as the 'f-factor'. Thus the percentage of solid phase is given by: –

$$\% \text{ solid phase} = 100\, fS'_s / (fS'_s + S_l) \quad (4)$$

Clearly, the f-factor will be dependent upon: –

(i) the dead time of the receiver circuit,

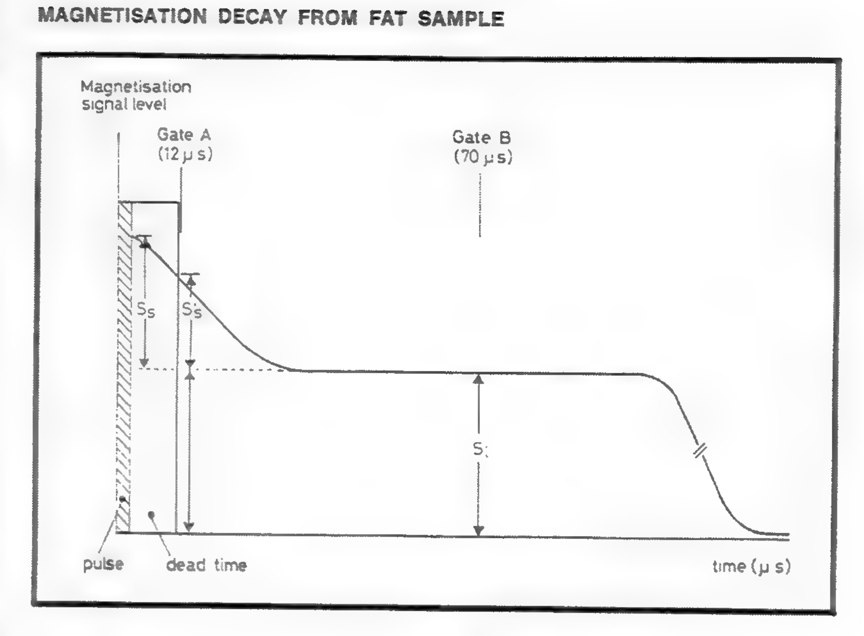
(ii) the relaxation time (T_2) of the solid (and T_2 depends upon the polymorphic form, crystal size and type of fat).

It is obviously desirable that the f-factor be as close as possible to one; usually in practice a value of about 1.50 is found. Thus if the f-factor can be accurately determined, the solid content can be **directly** measured.

If one is prepared to use the signal level after 70 µs to calculate the specific signal from the liquid phase of the sample and relate this to a reference standard oil, then it is possible to use this 'indirect' method to deduce the solid phase content (3, 8, 9). This is a procedure comparable to that used with continuous wave equipment.

FIGURE 3.

MAGNETISATION DECAY FROM FAT SAMPLE



Apparatus

A modified version of the BRUKER Process Analyzer Type P 20 (known as the P 20 i) is used by the Unilever factory process control laboratories for routine determination of solids content in margarines and cocoa butter replacer fats. The modified instrument is essentially the P 20 instrument to which an analog computation device has been added to carry out the calculation of the percentage of solid phase. At the end of the measuring period the percentage of solid phase is displayed on a digital volt meter (DVM). The mode of operation of this unit is illustrated, with the aid of a block diagram, in Figure 4.

The multiplier unit (marked x f) is essentially an amplifier the gain of which is set equal to f. The amplifier gain, and hence the f-factor, can be adjusted using a potentiometer and the value of f used can be displayed on the DVM.

Calibration Procedure

A number of methods for determining the f-factor have been examined (3, 8, 9) and the method finally selected was based upon the use of standards having predetermined solids contents. These standards consist of a rod of CELERON plastic immersed in paraffin oil. In brief, the calibration procedure involves adjusting the 'f-factor' (i. e. the amplifier gain) until the solids contents of the calibration standards are accurately reproduced by the spectrometer (7).

Trigger Time

In order to obtain optimum accuracy and minimise the measuring time (thereby avoiding the necessity of thermostatting the sample holder in the spectrometer) a pulse repetition time of two seconds was used and the analog computation unit was adjusted to take the average of three successive measurements.

FIGURE 4.

ANALOG COMPUTATION DEVICE

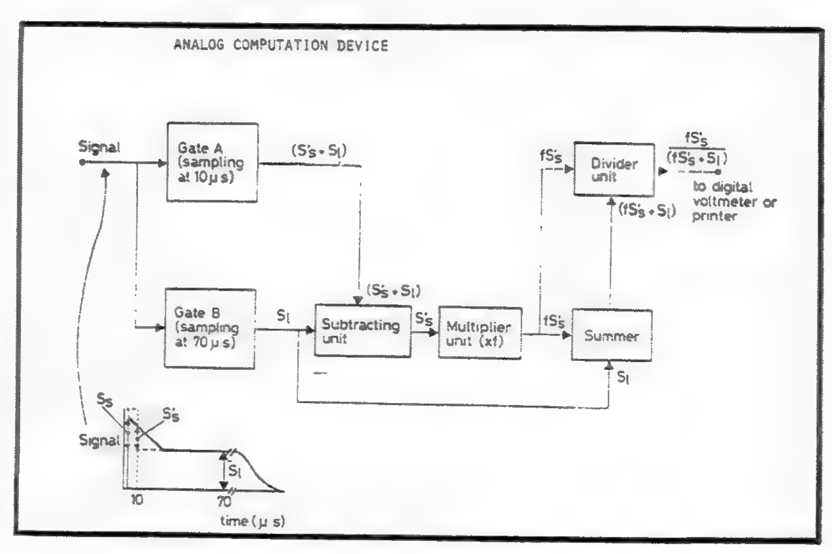
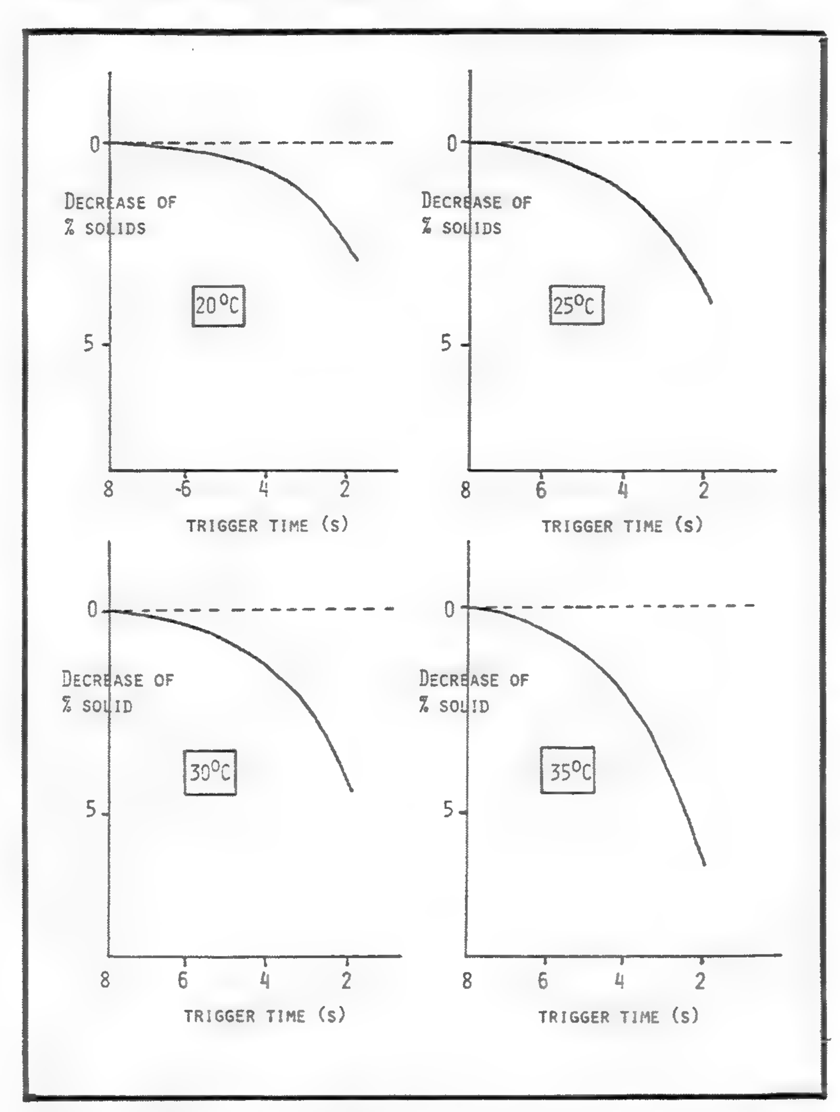


FIGURE 5.

DEPENDENCE OF THE MEASURED PERCENTAGE SOLID PHASE ON THE TRIGGER TIME USED (FOR GROUP 2 FATS)



Whilst this has proved to be satisfactory for the margarine fats (and CBR fats), consideration of Figure 5 shows that the trigger time has a marked effect upon the solids content measured for the CBE (Group 2) fats. For cocoa butter like fats a trigger time of six seconds is necessary.

Averaging of three pulses would require a measuring time of 18 seconds which is too long for the sample to remain in the unthermostatted sample holder. Consequently, a single pulse is used for these fats instead of the average of three. This means that the accuracy is slightly reduced but is still acceptable. The magnitude of the error likely to result from incorrect choice of trigger time is indicated in Figure 5.

3. SOLID PHASE CONTENT DETERMINATION IN FATS:

A central feature of any method for the determination of solids contents in fats is the treatment to which the fats have been subjected prior to measurement. This pretreatment, or stabilisation procedure, governs the amount and type of fat crystals formed and, consequently, the solids content measured by n.m.r. It is, therefore, essential to adhere to a specified stabilisation procedure if reliable and reproducible results are to be obtained. This is important regardless of whether solids contents or dilatations are to be determined.

Stabilisation Procedures

The stabilisation and tempering procedure for all fats which do not require a long stabilisation pretreatment is set out on the left hand side of Figure 6.

For those fats which require a long stabilisation step, the so-called confectionery fats (Group 2), the procedure is set out on the right of Figure 6. These two procedures are essentially similar to those used for the determination of dilatation by the British Standards Institute method (11).

Why Use a Parallel Method?

The usual procedure for the determination of dilatation requires that the samples are subjected to tempering at each of the measuring temperatures in a serial fashion. Although such a serial measurement sequence is satisfactory for dilatometry, it does not allow full advantage to be taken of the pulse n.m.r. technique. Consequently, a parallel method has been adopted. This means that for each measuring temperature a separate sample tube has to be filled and tempered at that temperature. Each sample is transfered directly from the 0°C bath to the bath at the desired temperature.

There are two distinct advantages of the parallel procedure. Firstly, the time taken to carry out the entire procedure is considerably shortened. Secondly, the measurements are independent of the number of temperatures used. In the case of the serial measurements the values obtained at some temperature in the middle of the range depend upon the temperatures used previously.

At the temperatures used for the measurement of solid phase content the n.m.r. tubes are contained in holes in aluminum blocks which are maintained at the desired temperature by partial immersion in water thermostated at that temperature. At all other temperatures metal racks are used. The advantage of the use of blocks is that it is not necessary to dry the tubes (12) before placing them in the n.m.r. spectrometer. Additionally, better thermal stability and heat exchange are obtained.

Measurements are made simply by transferring a tube from the water bath to the sample holder of the spectrometer and reading off the percentage of solids from the meter.

Conversion to Dilatation Values

The change from process monitoring of margarine fat blending using dilatation measurement to process monitoring using pulse n.m.r. was constrained by the need to have available an accurate conversion between solids content and dilatation. Currently, conversion tables are available for the margarine and CBR fats (7). These have been derived from regression analysis on large numbers of determinations of solids contents and dilatations for a wide variety of fats and fat blends. In general it is possible to obtain relations having standard deviations of better than 45 dilatation points (mm^3/25 g fat) (7).

If only one type of fat is used then much smaller standard deviations can be achieved but the range of application of the conversion is consequently restricted.

The CBE (Group 2) fats are currently under investigation but the problems here are compounded by the complex polymorphic behaviour exhibited by these fats. It seems possible that interconversion for this group of fats will be somewhat less accurate than for the first group.

Some Results for CBR Fats

In Figure 7 results are summarised for twelve different cocoa butter replacer fats which may be conveniently divided into five categories. Comparable results for the margarine fats have been published in detail elsewhere (7).

The results shown in the figure enable the solids contents, measured by the

FIGURE 6.

STABILISATION AND TEMPERING PROCEDURES

(GROUP 1) **MARGARINE AND CBR FATS**	(GROUP 2) **CBE FATS**
MELT FAT AT 80°C	MELT FAT AT 80°C
↓	↓
HOLD FAT FOR 5 MIN AT 60°C	HOLD FAT FOR 5 MIN AT 60°C
↓	↓
HOLD FAT FOR 60 MIN AT 0°C	HOLD FAT FOR 90 MIN AT 0°C
↓	↓
30–35 MINS AT EACH MEASURING TEMPERATURE (MARGARINE FATS: – FROM 10°C AT INTERVALS OF 5°C TO 60°C) (CBR FATS: – 20, 25, 30, 32.5, 35, 37.5, 40°C)	40 HRS AT 26°C (STABILISATION)
	↓
	HOLD FAT FOR 90 MIN AT 0°C
	↓
	60–65 MIN AT EACH OF THE MEASURING TEMPERATURES (CBE FATS: – 20, 25, 30, 32.5, 35, 37.5, 40°C)

'direct' method (used in Unilever factories), to be compared with those determined by the 'indirect' method using an oil standard.

Clearly the most important factor in process monitoring is that the measurements be reproducible and, consequently, the approach taken within Unilever has been to devise a method which yielded the highest reproducibility between laboratories even at the expense of a small measure of absolute accuracy. However, a comparison of the results in Figure 7 illustrates that the 'direct' method leads to results which are in excellent agreement with those obtained using the 'indirect' approach (3, 8, 9).

4. CONCLUSIONS:

The method for the determination of solids contents in margarine fats and cocoa butter replacer fats has been in routine use within Unilever factories for some years. In the majority of factories solids content measurement using pulse n.m.r. has replaced dilatation measurement for routine process monitoring. It has been demonstrated that the pulse n.m.r. method is reliable and can be operated by staff after only a minimum of instruction.

Following the satisfactory outcome of the attempts to use the pulse n.m.r. technique for solids content determination in margarine and cocoa butter replacer fats, attention has now been focussed on the fats mentioned in Group 2 (see Figure 2).

5. REFERENCES:

1. K. van Putte, L. Vermaas, J. van den Enden and C. den Hollander, J. Amer. Oil Chem. Soc., 52, 179 (1975).
2. K. van Putte and J. van den Enden, J. Amer. Oil Chem. Soc., 51, 316 (1974).
3. K. van Putte I, Bruker Reports No. 6 (1976). Bruker minispec application note No. 4
4. R. T. O'Connor, R. R. Allen, K. M. Brobst and S. F. Herb, J. Amer. Oil Chem. Soc., 49, 431 (1972).
5. P. B. Hansfield, J. Amer. Oil Chem. Soc., 48, 4 (1971).
6. A. J. Haighton, J. Hannewijk and P. W. Hendrikse, 'Analysis and Characterisation of Oils, Fats and Fat Products', Ed. H. A. Boekenoogen, Vol. 1, p. 119, Interscience, London 1964.
7. J. C. van den Enden, A. J. Haighton, K. van Putte, L. F. Vermaas and D. Waddington, Fette, Seifen und Anstrichmittel, 80, 180 (1978).
8. K. van Putte II, Bruker Reports No. 5/1 (75). Bruker minispec application note No. 5
9. K. van Putte III. Bruker minispec application note No. 6
10. T. C. Farrar and E. D. Becker, 'Pulse and Fourier Transform NMR', Academic Press, New York 1971.
11. British Standards Institute Method Number BS 684 (1976), Sect. 1. 12.
12. **Note:** Drying the tubes requires that they be wiped with a tissue which could result in changing the temperature of the fat and, consequently, the measured solids content.

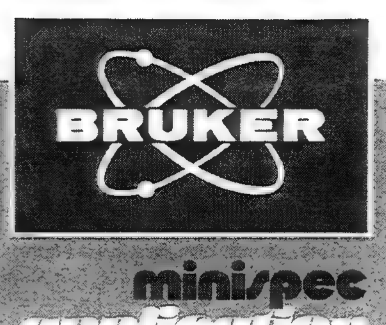
FIGURE 7.

SOME RESULTS FOR CBR FATS (% SOLIDS)

	FAT	20 I	20 D	25 I	25 D	30 I	30 D	35 I	35 D
1	LAURIC STEARINES	81.9	81.8	54.7	54.1	0.6	0.4	0.3	0.0
2		84.5	84.5	69.8	69.0	34.1	33.4	0.0	0.2
3		84.6	85.6	86.8	88.0	47.2	48.0	5.4	4.9
4	HYDROGENATED LAURIC BLENDS ETCETERA	78.9	79.0	54.8	54.8	31.9	29.8	15.7	13.8
5		80.2	79.8	57.0	56.8	26.7	25.5	3.2	2.5
6		67.4	67.5	42.5	43.0	22.7	21.8	11.2	9.6
7		79.4	79.6	51.9	52.1	21.1	19.6	5.9	4.3
8		54.9	54.3	27.8	27.4	3.4	3.8	0.5	0.0
9	FULLY HYDROGENATED PALM KERNEL OIL	86.1	86.2	62.7	62.7	31.3	29.6	11.6	10.3
10	FULLY HYDROGENATED COCONUT OIL	54.0	54.4	17.4	16.8	4.8	5.3	1.9	2.4
11	HYDROGENATED LIQUID OIL FRACTIONS	86.9	88.3	71.2	72.4	35.2	34.3	1.4	0.3
12		67.7	67.5	55.2	54.3	36.6	34.9	16.1	13.3

(Temperature in °C.) (I = indirect method; D = direct method)





minispec application note 9

Pulsed NMR for Rapid and Nondestructive Determination of Oil in Oils seeds

Dr. P. N. TIWARI · Nuclear Research Laboratory, Indian Agricultural Research Institute · New Delhi, India

1. Introduction

Pulsed NMR has been used for rapid and nondestructive determination of oil in oilseeds[1,2], which is of great help in oilcrop improvement programs for selecting seeds and plants of higher oil content among thousands of progenics[3]. These programs are mostly aimed at producing more oil per hectare per day. The quantity of oil produced by oilcrop is the product of yield and percentage of oil in seeds. The breeder uses visual methods for evaluating high yield and other characters, such as resistance to diseases, pests and arid conditions, the ability of the crop to withstand wind and rain, and its ability to reach early maturity. However, he faces enormous difficulties when selecting seeds and plants with higher percentage of oil on the basis of chemical analysis which is slow and destructive. A destructive analysis does not permit the direct propagation of seeds. Wide-line NMR has been in use for the past fifteen years for selecting seeds of higher oil content in plant breeding. Pulsed NMR has been used for this purpose recently. It is faster and more accurate than wide-line methods. The requirement of the magnetic field homogeneity is not critical in pulsed NMR. In fact, it is necessary to use a slightly inhomogenous field to make the FID signal independent of the T_2 of oil in seeds, which is found to vary from seed to seed and sample to sample. The percentage of oil in seeds can be determined with pulsed NMR by measuring the oil signal alone or the composite of oil, moisture and solid signals. The former is more accurate but the seeds must be dried and weighed. In the latter method, it is not necessary to dry the seeds, plus the accuracy is good enough for most plant breeding work.

2. Determination of seed oil by measuring the oil signal

The determination of oil in oilseeds by NMR is based upon the fact that the proton transverse relaxation time T_2 is much larger in oils than in protein, carbohydrate or water, which are the four main constituents of oilseeds. The T_2 of oil is about 100 ms. This makes it possible to measure the oil in FID signal without any interference from other parts of the seed. The signal is converted into the percentage of oil in seeds by weighing the seeds and using a linear calibration curve. The calibration curve is prepared using pure extracted oil from the same crop. The calibration is valid because the variation in percentage of hydrogen in oil from different varieties of the same crop is within 1 %, provided cultivation is under similar climatic conditions.

In order to determine the oil content of seeds accurately, it is necessary to measure the liquid signal in such a way that it does not depend upon spin-lattice relaxation time, spin-spin relaxation time, angular position of seeds in the sample tube, sample tube thickness or sample volume. The signal should not have any contribution from the solid component (protein and carbohydrate) or moisture of the seeds. **Fig. 1** shows the FID signal of sun-dried peanut seeds containing 7 % moisture. The data was recorded with a BRUKER Minispec p 20 having a two RF coil arrangement. Fig. 1 also shows the change in the signal of the same seeds dried at 60°C and 105°C. There is practically no contribution of protein and carbohydrate at about 70 μsec, while the moisture signal persists up to about 200 μsec. From this, one might think of measuring the liquid signal at 200 μsec or beyond. This is not meaningful because of the angular dependence of the whole seeds placed in the magnetic field. This effect is shown in **fig. 2** and is almost negligible for relatively homogenous samples like mustard seeds. Note that peanuts give significantly different signals at 200 μsec for different angular positions of the seeds in the sample tube. The angular dependence disappears at about 70 μsec. In order to measure the oil signal alone at 70 μsec, the seeds have to be dried at 105°C, but seeds dried at this temperature do not remain viable. Fig. 1 shows that at about 110 μsec there is practically no contribution from moisture to the signal for seeds dried at 60°C, and the angular dependence at this point in time is within ± 1 %. Seeds dried at 60°C remain viable. Therefore a nondestructive analysis can be made by measuring the signal of 60°C dried seeds at 110 μsec. This time will be different for different instruments because it depends upon the inhomogeneity of the magnetic field.

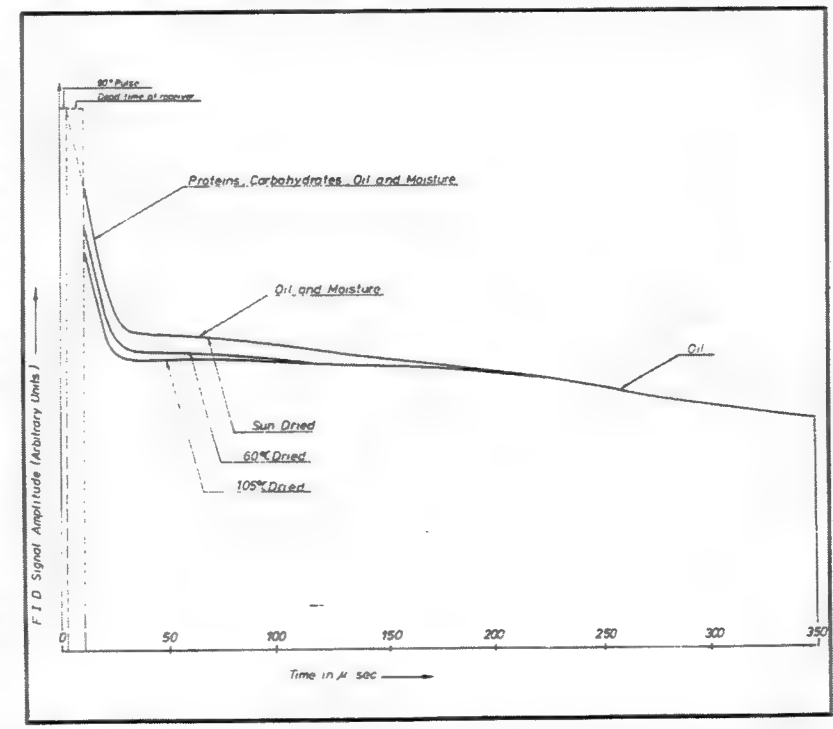


Fig. 1: Change in F.I.D. Signal of the same peanut seeds dried in sun, 60°C and 105°C

This inhomogeneity effect can be removed by measuring the spin-echo signal. However, the decay of a spin-echo is dependent on T_2 and the T_2 of oil varies from sample to sample. As shown in **fig. 3**, there might be two or more values of T_2 even in a sample of the same seeds. The use of a calibration curve would give wrong results in such cases. The decay of the FID signal of oil is not dependent on T_2, but instead is governed by T_2^*, defined by:

$$\frac{1}{T_2^*} = \frac{1}{T_2\,(\text{oil})} + \frac{1}{T_2\,(\text{field})} \qquad (1)$$

Since T_2 (field) is very small compared to T_2 (oil), the decay of the FID is not affected by a change T_2 (oil). Variations in T_1 of seed oil are taken into account by adjusting the pulse repetition rate so that the magnetization corresponding to longest T_1 is at its maximum value.

All seeds of the same variety do not have the same oil content. The average oil content of a variety is determined by selecting a sample which statistically represents the variety. The weight and volume of such a sample varies from crop to crop. The required sample weight for mustard is 2 g while for sunflower seeds 5 g are needed. The sample volume should not be more than the volume over which the RF field and magnetic field are constant. The sample may be divided into two or three parts and averaged if this volume is not sufficient to accommodate the representative sample at one time. This is necessary for large seeds like peanut and sunflower.

Table 1

	Oil percentage in mustard seeds	
Sample No.	Pulsed NMR	CCl_4 extraction
1	47.8	46.3
2	48.7	48.3
3	45.8	45.3
4	43.3	42.9
5	43.0	44.8
6	45.4	45.4
7	29.4	29.2
8	46.3	46.3
9	40.4	39.5
10	48.6	48.9
11	39.4	40.8
12	47.0	46.9
13	39.4	39.8
14	44.4	44.9
15	40.2	41.1

Since the signal depends also upon the thickness of the tube, similar sample tubes should be used for preparing the calibration curve and for sample analysis. The oil content of mustard, sunflower and peanut seeds have been measured with the pulsed NMR technique and by CCl_4 extraction. These results are presented in Tables 1, 2 and 3. Agreement between the two methods is very good. Similar agreement has also been found between pulsed NMR and Soxhlet methods. This shows that the measurement of the FID signal of oil is an accurate method for the rapid and nondestructive determination of oil in oilseeds.

3. Seed oil determination by measuring solid and liquid FID signals

The solid-liquid ratio in a mixture of solid-liquid fat has been accurately measured, using the BRUKER Minispec p 20: The FID data is shown in **fig. 4**. Neglecting the difference in proton content of liquid and solid fat, the ratio can be calculated from the solid and liquid signals. The full solid signal S is obtained by multiplying the FID signal S'

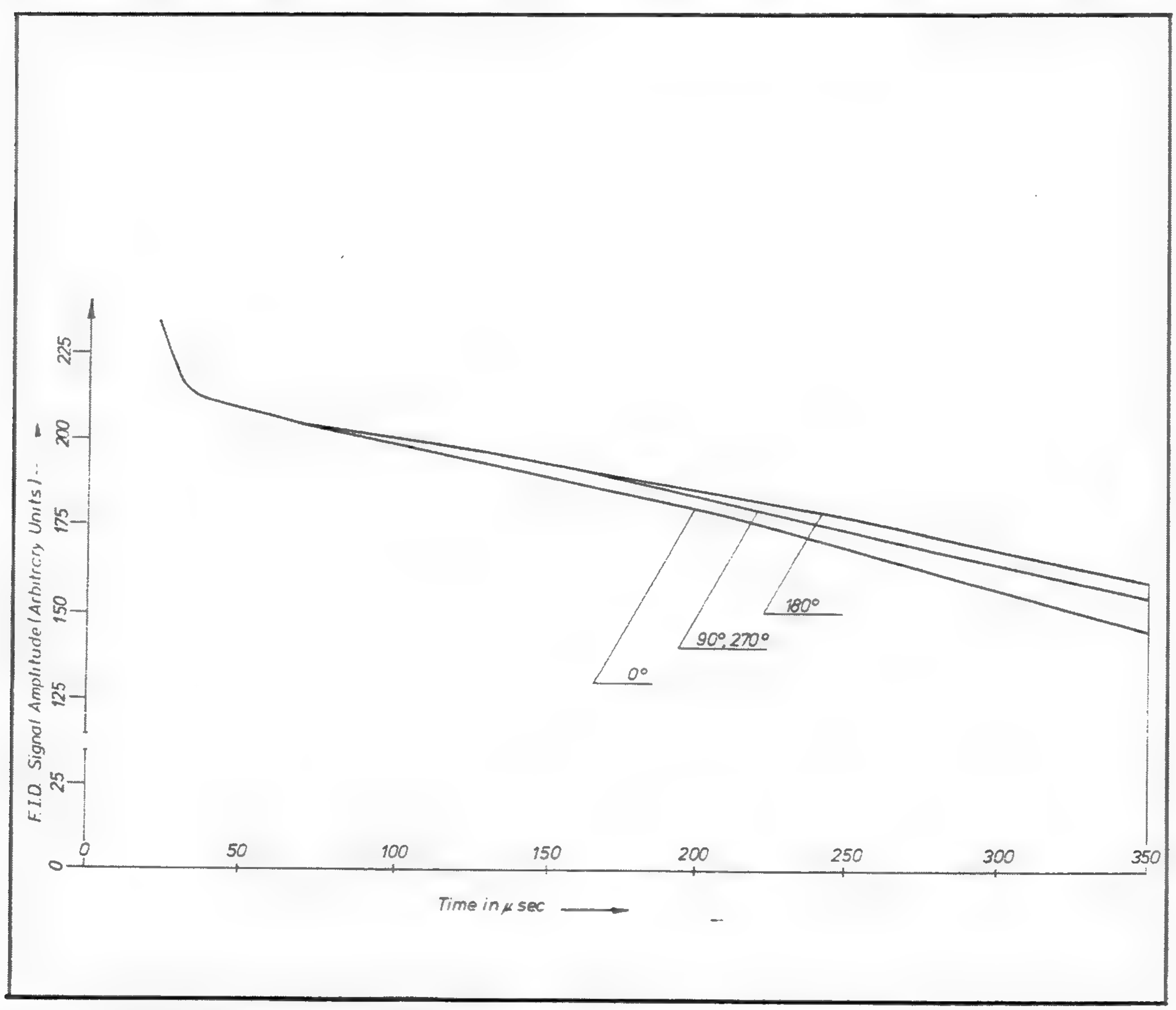


Fig. 2: F.I.D. Signal of single peanut seed for different angular positions of sample tube in probe head

Table 2

	Oil percentage in sunflower seeds	
Sample No.	Pulsed NMR	CCl_4 extraction
1	44.9	45.2
2	38.5	38.9
3	45.4	45.6
4	43.3	42.6
5	41.4	41.1
6	37.0	38.3
7	34.1	33.7
8	44.5	45.1
9	35.7	36.4
10	45.0	45.4
11	35.6	36.5
12	32.7	32.5

Table 3

	Oil percentage in peanut seeds	
Sample No.	Pulsed NMR	CCl_4 extraction
1	50.4	49.3
2	51.8	50.9
3	52.3	51.1
4	51.6	50.5
5	49.8	48.8
6	51.1	52.6
7	42.5	43.5
8	49.5	48.5
9	45.4	46.9
10	45.4	46.9

Table 4

	Oil percentage and F factor of mustard seeds		
Sample No.	Oil % using liquid signal	F factor	Oil % using mean F value=3.22
1	37.2	3.2	37.3
2	37.9	3.24	37.9
3	43.1	3.14	42.6
4	40.4	3.18	40.3
5	42.2	3.34	43.3
6	43.6	3.28	44.1
7	41.2	3.18	41.1
8	41.2	3.22	41.3
9	43.5	3.22	43.4
10	46.5	3.22	46.4

measured at 10 μsec (immediately after the dead time of the receiver) by a correction factor F, which accounts for the T_2 decay of the solid fat protons. The solid signal decays to negligible value at about 70 μsec, while the liquid signal has only about 1 % at this time. Therefore the FID measured at 70 μsec gives nearly the full liquid signal L. The percentage oil in the mixture can be calculated as:

$$\text{Oil } \% = \frac{L}{L + FS'} \times 100$$

The above procedure with some modifications has been used to measure oil content of a number of samples of mustard, sunflower and soyabean seeds by the solid liquid signal method[5]. These samples were used as standards for measuring variation in F-factor within the same crops. Using the mean F-factor, oil contents of sundried seeds (about 7 % moisture) of these crops were determined. The results are given in tables 4, 5 and 6. Agreement between the two methods for mustard is better than for sunflower or soyabean because the sample size used in the experiment was too small to accommodate representative samples of sunflower or soyabean seeds. Larger sample tube diameter would yield much better results. However, the results of the experiments

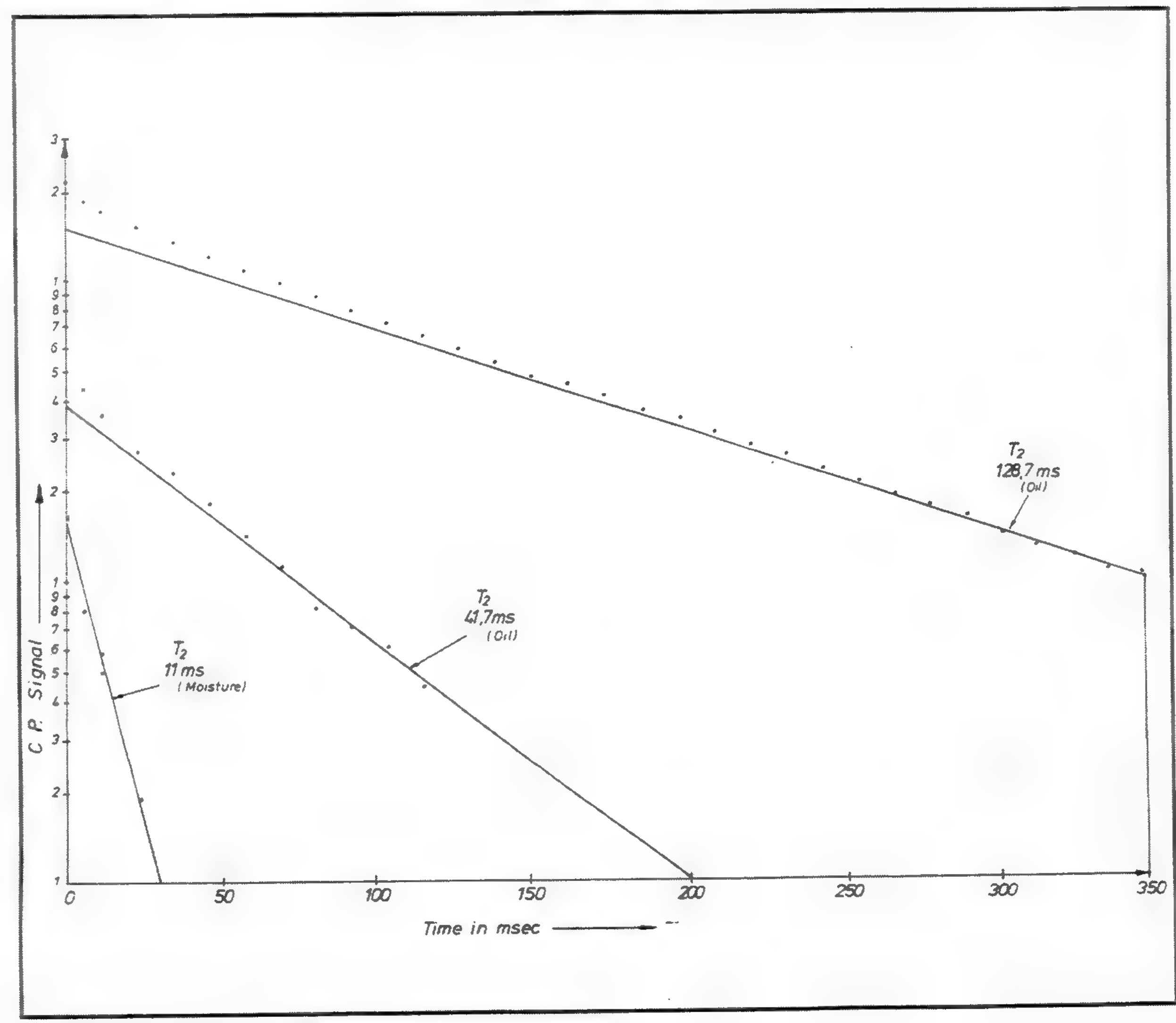


Fig. 3: Semilog plot of C.P. sequence of sun dried sunflower seeds

show that it is possible to use the solid-liquid signal method for nondestructive oil determination of sundried seeds in plant breeding work.

Table 5

	Oil percentage and F factor of sunflower seeds		
Sample No.	Oil % using liquid signal	F factor	Oil % using mean F value=2.87
1	35.2	2.84	35.0
2	38.3	2.92	39.0
3	42.7	2.64	40.6
4	37.1	2.84	37.3
5	44.1	2.94	44.6
6	39.4	2.9	39.8
7	42.9	3.0	44.6

Table 6

	Oil percentage and F factor of soyabean seeds		
Sample No.	Oil % using liquid signal	F factor	Oil % using mean F value=2.98
1	19.9	3.2	21.1
2	23.7	2.84	22.9
3	22.2	2.78	21.0
4	19.6	2.94	19.8
5	23.3	2.98	23.2
6	22.0	2.88	21.7
7	20.7	3.0	20.7
8	18.0	3.2	19.2
9	20.2	2.98	20.3

4. References

1. Tiwari, P. N., P. N. Gambhir and T. S. Rajan: Rapid and nondestructive determination of seed oil by pulsed nuclear magnetic resonance technique. J. Am. Oil. Chem. Soc. **51**, 104 9 (1974).
2. Schtscherbakov, V. G., E. I. Kuptschenko and E. X. Aspiotis: Determination of the oil content in different seeds by the spin-echo method (Original in Russian). Pistschew, Technol. No. **2**, P. 122/24 (1973).
3. Asthana, A. N., S. D. Dubey and P. N. Tiwari, P. N. Gambhir, T. S. Rajan: Variability studies and breeding for increased oil content in rapeseed and mustard. Expl. Agric. **15**, 65/71 (1979). (Printed in Great Britain)
4. Van Putte, K. and J. van den Enden: Fully automated determination of solid fat content by pulsed NMR. J. Am. Oil. Chem. Soc. **51**, 316/20 (1974).
5. Tiwari, P. N. and W. Burk: Seed oil determination by pulsed NMR without weighing and drying seeds. To be published.

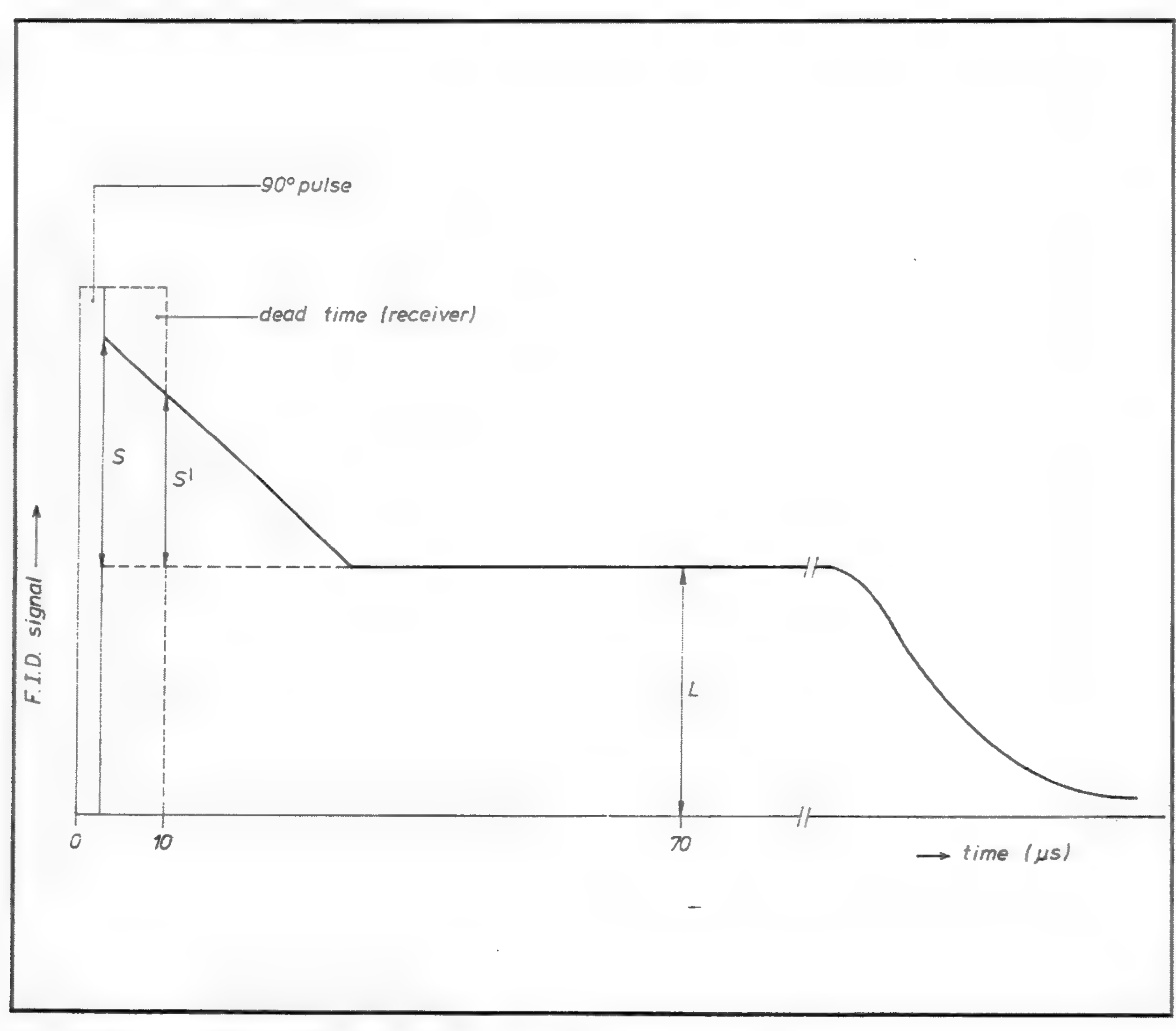
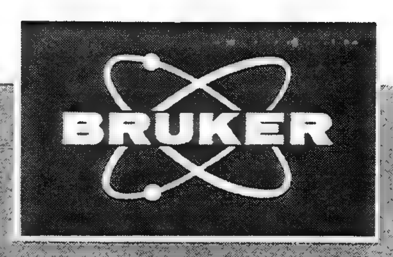


Fig. 4: Decay of the F.I.D. signal of a mixture of solid - liquid fat

Reprinted from THE JOURNAL OF THE AMERICAN OIL CHEMISTS' SOCIETY, Vol. 57, No. 3, Pages 119–121



Seed Oil Determination by Pulsed Nuclear Magnetic Resonance without Weighing and Drying Seeds



P. N. Tiwari, Nuclear Research Laboratory, Indian Agricultural Research Institute, New Delhi, India, and W. Bürk, Bruker Analytische Messtechnik GmbH, 7512 Rheinstetten-4, West Germany

ABSTRACT

Pulsed nuclear magnetic resonance (NMR), which takes about 10 sec per analysis, has been used for rapid nondestructive determination of oil in oilseeds without weighing and oven drying the seeds. This has been done by measuring the free induction decay (FID) signal of solid and liquid in oilseeds. The oil values determined by this method for mustard, sunflower, and soybean seeds have been compared with the values determined by measuring the oil signal alone in the intact seeds, which takes about 2 min per analysis. Correlation for mustard is 0.988, for sunflower 0.945, and for soybean 0.931. The reasons for better agreement for mustard and the way of improving it for sunflower and soybean have been discussed.

INTRODUCTION

It is necessary to use a rapid and nondestructive method of determining oil in seeds for selecting seeds of higher oil content among thousands of progenies in plant breeding work. Methods based on wide-line and pulsed nuclear magnetic resonance (NMR) have been developed and used for this purpose (1,2). In these methods, seeds have to be oven dried and weighed. This paper deals with a pulsed NMR method in which it is not necessary to oven dry and weigh the seeds. It is based on the measurement of the free induction decay (FID) signal of the solid phase (protein and carbohydrate) and the liquid phase (oil) of oilseeds and is

FIG. 1. FID signal of the same mustard seeds dried in the sun and at 105 C.

called the solid-liquid signal method of seed oil determination. The transverse relaxation time T_2 of the solid phase is much smaller than that of the liquid phase, which enables the separation of the two signals.

The percentage of solid or liquid in a mixture of solid-liquid fat has been determined by measuring the FID signal of the solid and liquid phases (3). There are some problems in using it for seed oil determination. Figure 1 shows the FID signal of the same mustard seeds dried in the sun and at 105 C. The signal measured at 10 μsec immediately after the dead time of the receiver gives a part of the solid signal S' plus full oil signal L as shown on the lower curve of Figure 1. The solid signal decays to negligible value by about 70 μsec. The decay of the liquid signal at this point is not very significant. The signal measured at 70 μsec gives nearly the full oil signal. The full solid signal S can be obtained multiplying S' by a correction factor f which depends on T_2 of solid and dead time of the receiver. If the proton density in the solid and liquid phase is the same, the oil percentage can be expressed as:

$$\text{oil \%} = \frac{L}{L + fS'} 100 \qquad [1]$$

There are three main problems in using this expression for calculating oil percentage in sun-dried seeds (exposed to summer sun for several days after harvest). First, the seeds have about 6% moisture, which contributes to the oil signal at 70 μsec as shown by the upper curve of Figure 1. Second, the proton density in the solid phase (protein and carbohydrate) is not the same as in the oil phase of oilseeds. Third, there might be a considerable difference in solid phase T_2 of different samples of the same crop, making f different for different samples. If the moisture content, proton density difference, and solid phase T_2 do not change significantly from sample to sample, the oil percentage in seeds can be determined by measuring S', L, and using another correction factor F. The oil percentage can be expressed as:

$$\text{Seed oil \%} = \frac{L}{L + FS'} 100 \qquad [2]$$

EXPERIMENTAL PROCEDURES

The transverse relaxation time T_2 of the solid phase of several samples of mustard, sunflower, and soybean seeds was measured to study its variation. A Bruker Minispec p20i with two-coil arrangement, signal averager, and transient recorder was used. The FID signal of the solid phase was found to decay to an insignificant value after about 70 μsec for all the samples. The oil signal remains nearly constant during this period, which makes it convenient to measure the decay of the solid signal and determine T_2 by a semilog plot of the signal against time squared (t^2), as the solid signal is Guassian in shape. It was found that T_2 of the solid is nearly constant (about 12 μsec) for all the measured samples of sun-dried oilseeds.

The F-factor, which is automatically calculated and displayed on the Minispec p20i, was determined for different varieties of mustard, sunflower, and soybean to study its variation. For this, the oil content of these varieties was determined by the oil signal method (2), which is an accurate method of seed oil determination, but the seeds must be oven dried and weighed. The F-factor of sun-dried seed samples of each variety was measured by putting such samples in the probe and adjusting the F-factor as necessary to arrive at the oil percent of the variety, determined by the oil signal method. The F-factor of sun-dried seeds was found to be greater than that of oven-dried seeds because of the contribution of moisture to the liquid signal of the former. Some variation was found in the F-factor of different varieties of the same oilcrop. Therefore, the mean F-factor for each crop was calculated. The mean F-factor of a particular crop was used to measure the oil content of different samples of that crop by the solid-liquid signal method (3). The Bruker Minispec p20i with two-coil arrangement was used for the determination of oil content by both methods (2,3). Samples of mustard, sunflower and soybean having a maximum weight of ca. 2.5 g, 1.5 g, and 2.3 g, respectively, can be analyzed by this instrument. It has a sample volume of about 3.5 cc. After making all these measurements, the moisture content of the same samples was determined by drying them at 105 C to constant weight.

TABLE I

Oil Percent, F-Factor and Moisture Percent of Mustard, Sunflower, and Soybean Seeds

Crop	Sample no.	Oil, % by oil signal method	F-Factor sun-dried seeds	Oil, % by solid-liquid signal method with mean F-factor	Moisture, %
Mustard	1	37.2	3.20	37.3	6.3
Mustard	2	37.9	3.24	37.9	6.2
Mustard	3	43.1	3.14	42.6	5.7
Mustard	4	40.5	3.18	40.3	6.1
Mustard	5	42.2	3.34	43.3	5.5
Mustard	6	43.7	3.28	44.1	6.4
Mustard	7	41.3	3.18	41.1	6.7
Mustard	8	41.3	3.22	41.3	6.8
Mustard	9	43.5	3.22	43.4	6.8
Mustard	10	46.5	3.22	46.4	6.2
Sunflower	1	35.2	2.84	35.0	6.0
Sunflower	2	38.4	2.92	39.0	5.1
Sunflower	3	42.7	2.64	40.6	5.9
Sunflower	4	37.1	2.84	37.3	6.1
Sunflower	5	44.2	2.94	44.6	5.7
Sunflower	6	39.4	2.90	39.8	6.1
Sunflower	7	42.9	3.00	44.6	7.9
Soybean	1	19.9	3.20	21.1	7.0
Soybean	2	23.7	2.84	22.9	6.5
Soybean	3	22.2	2.78	21.0	6.8
Soybean	4	19.6	2.94	19.8	7.5
Soybean	5	23.3	2.98	23.2	6.9
Soybean	6	22.0	2.88	21.7	6.9
Soybean	7	20.7	3.00	20.7	6.5
Soybean	8	18.0	3.20	19.2	7.2
Soybean	9	20.2	2.98	20.3	6.9

RESULTS AND DISCUSSION

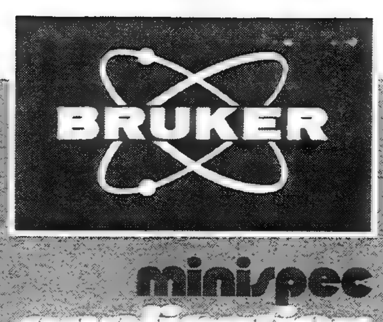
The oil values determined by the oil signal and the solid-liquid signal methods, moisture content, and F-factor for each sun-dried sample of mustard, sunflower, and soybean have been given in Table I. The mean F-factors of these crops for their sun-dried seeds are 3.22, 2.87 and 2.98, respectively. The correlation in oil values determined by the two methods is 98.8% for mustard, 94.5% for sunflower, and 93.1% for soybean. It might be possible to improve the correlations for sunflower and soybean which have much larger seeds than mustard by analyzing larger samples of ca. 5 g in weight which would provide a more representative sample. This could be achieved by using an NMR probe head with a larger volume over which the RF and the magnetic fields are constant.

In the present experiment, the requirement of the representative sample has been fully met for mustard crop by using ca. 2.5 g seeds. The agreement between the oil values obtained by the two methods is very good for mustard, which means that the solid phase T_2, moisture content, and proton density difference between the two phases of the seeds do not change significantly from sample to sample. The good agreement between the methods shows that it is possible to determine oil in seeds by pulsed NMR without weighing sun-dried seeds in plant breeding.

REFERENCES

1. Conway, T.F., and F.R. Earle, JAOCS 40:265 (1963).
2. Tiwari, P.N., P.N. Gambhir, and T.S. Rajan, Ibid. 51:104 (1974).
3. Van Putte, K., and J. Van den Enden, Ibid. 51:316 (1974).

[Received September 4, 1979]



minispec application note 12

Rapid Determination of the Water Content of Pulped Sugar Beet at Various Processing Stages

H. P. Harz and H. Weisser, Institut für Lebensmittelverfahrenstechnik, Universität Karlsruhe, West-Germany

Summary

Experimental methods are described, by which the water content of wet pulp, pressed pulp and syruped dry pulp can be simply and accurately measured, using the principle of pulsed NMR. The simplicity of the pulsed NMR method makes it eminently suitable for purposes such as production monitoring and production control. The main advantage over previous methods lies in the speed of measurement: the total measurement time, including sample preparation, is less than 30 minutes.

1 Introduction

In the sugar industry monitoring of the production process requires the determination of the water content of pulped sugar beet at various manufacturing stages. After extraction (wet-pulp, water content ca. 90 %) the pulp is pressed (pressed pulp, water content ca. 80 %), mixed with molasses and drum dried to a final water content of about 12 %.

For use as an animal feed, the product is formed into pellets ca. 50 mm long and 11 mm dia. For the product to remain stable, the water content must remain low enough, not to support the growth of micro-organisms. Overdrying, on the other hand, needs to be avoided on grounds of cost. To carry out the drying process optimally, a rapid method of measuring the water content is essential. In this regard, all previously used methods have failed, due to the long measuring times of several hours against drying times of only about 30 minutes. The Karl-Fischer titration method used frequently in the food processing industry is also unsuitable, because of the long extraction times required.

Measurements of the water content at the wet pulp and pressed pulp stages can also prove useful in enabling rapid changes in the production process, when necessary. The pulsed NMR technique has great potential as a monitoring tool for processes requiring the rapid analysis of water content.

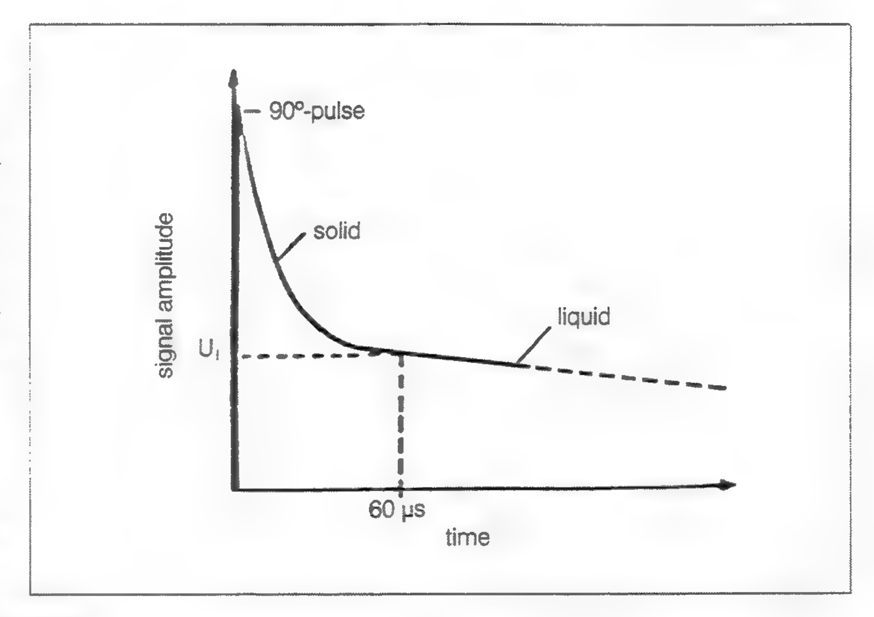


Fig. 1
Signal decay following a 90° pulse and resulting from a sample containing solid and liquid components.

2 Determination of Water Content of Pulped Sugar Beet after Mixing with Molasses and Drying

2.1 Sample Preparation and Measurement Water Content Reference Values

To prepare samples having different water contents, pulps are exposed to atmospheres with defined relative humidities, e. g. as obtained in desiccators containing saturated brine solutions. The desired water content may be obtained by varying the brine solutions and the retention time in the desiccators. The reference values are measured gravimetrically. Therefore, the samples are dried for three hours at 105 °C in a vacuum oven with stimulated air turbulence – a standard procedure in the German sugar industry. After three hours, virtually all the water has been removed and at 105 °C there is no danger that the samples will decompose.

2.2 Pulse Sequence and Parameter Adjustment for "minispec pc 20"

A single 90° pulse is used and the amplitude of the resultant decay signal (measured in terms of volts per unit mass: V/g) is measured at a time when the decaying signal can be assumed to be due solely to the liquid relaxation (**Fig. 1**). It is essential with this method that the solid decay signal has completely relaxed, before the measurement is made. Where uncertainty exists, an oscilloscope or transient recorder coupled to a continuous-line recorder should be used to check it. The water content can be calculated from the signal amplitude per unit mass, with reference to the regression curve.

Because of the low packing density of the pulp, the samples are measured with a probehead designed to accommodate 13 mm o. d. tubes. Although the measuring coil is 60 mm long, the magnet homogeneity requires that the sample column height should not exceed 30 mm.

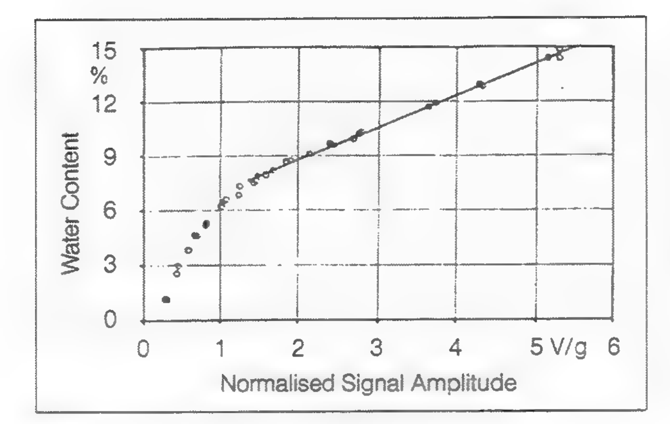


Fig. 2
Dependence of the weight-proportional signal on the water content of pulped sugar beet, after mixing with molasses and drying.

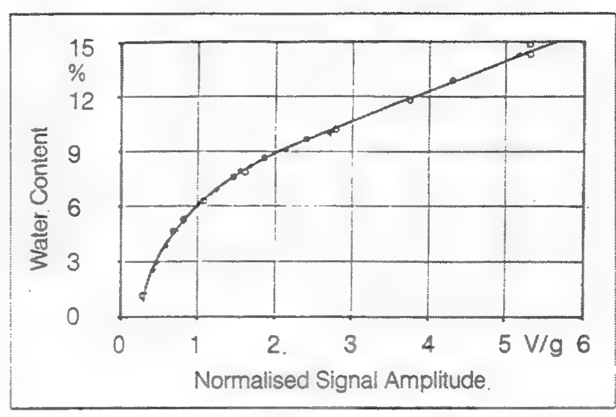


Fig. 3
Measurement reproducibility.

The following measurement parameters are used:

detection mode	diode
bandwidth	max.
gate time	60 µs
repetition time	0.5 s
no. of scans	144

The large number of scans is required to achieve a sufficient signal/noise ratio for accurate results. Measurements are performed with the magnet thermostated at 40°C. It is necessary to pre-condition the samples to this temperature before measurement.

2.3 Discussion of Results

Fig. 2 shows the water content as a function of the measured signal amplitude in volts per unit mass. It can be seen that over the region of practical interest, between 7.5 and 15 %, a good straight-line-approximation is achieved. **Fig. 3** serves to demonstrate the reproducibility of the measurements. Two sets of points are plotted (using different symbols) from the results obtained, using different sets of samples on different days. Within the limits of experimental error, all the points lie on the same curve.

In order to extrapolate the curve of **Fig. 3** to include higher water content values, samples were prepared with water contents up to 29 %.

Fig. 4 shows quite clearly, how the curve corresponds to three distinct phases: **strongly bound water, bound water, free water.**

It can also be seen that the dependence of the mass-proportional signal amplitude reduces with increasing water content.

2.4 Accuracy and Measurement Times

The accuracy of measurement is strongly influenced by the position of the sampling gate. Sampling during solid decay will result in the measured signal amplitude being too large, while sampling late in the liquid decay will result in the measured signal amplitude being too small and being affected by magnetic field inhomogeneity. The optimum sampling point is the closest one possible near the end of the solid decay.

An additional factor affecting accuracy is the number of measurements accumulated with each sample. More than 144 accumulations, however, lead to no further noticeable improvement.

Other factors affecting accuracy include:

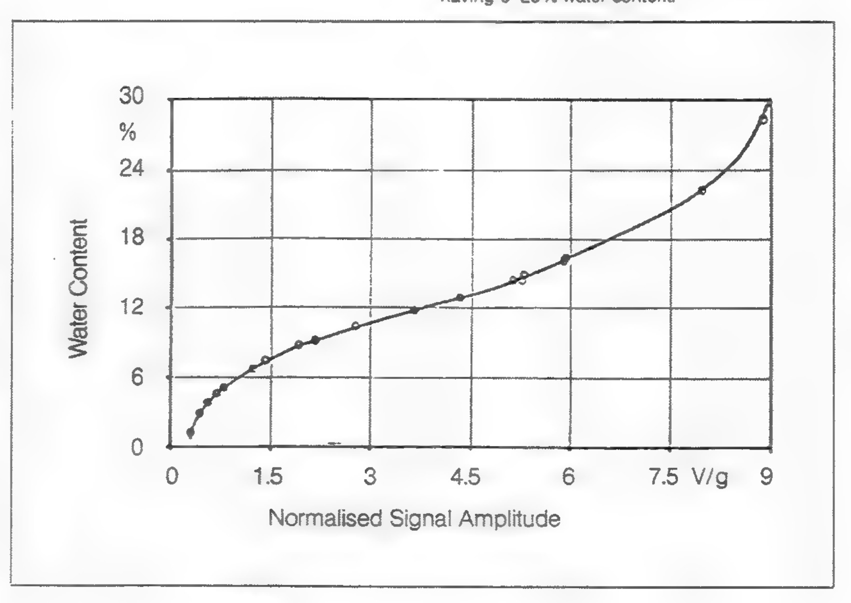
1. magnetic field inhomogeneity of the permanent magnet and of the r. f. coil. It is possible to eliminate the effects of the inhomogeneity of the permanent magnet by using a 90°–180° pulse sequence, but since the single 90° pulse method gives good results (and in practice, the simplest program should wherever possible be used), this alternative pulse sequence will not be considered further.
2. temperature variation;
   (Curie's law : $U \cdot T$ = const. applies!)
3. weighing errors.

Measurement accuracy cannot be stated exactly, since errors can also occur in determining the water content of the reference samples. Ignoring those errors, the following errors were achieved with 24 points of measurement.

The actual measurement time, depending upon the choice of repetition rate and number of accumulations, is at maximum 3 minutes.

In addition, the time taken for accurately weighing the amount of sample and entering the weighed value into the minispec must be considered. On the other hand the minispec can be equipped with an interface which, in conjunction with a suitable electronic balance, transfers the weight automatic-

Fig. 4
Dependence of the weight-proportional signal on the water content of syruped dried sugar beet pulp having 0–29 % water content.



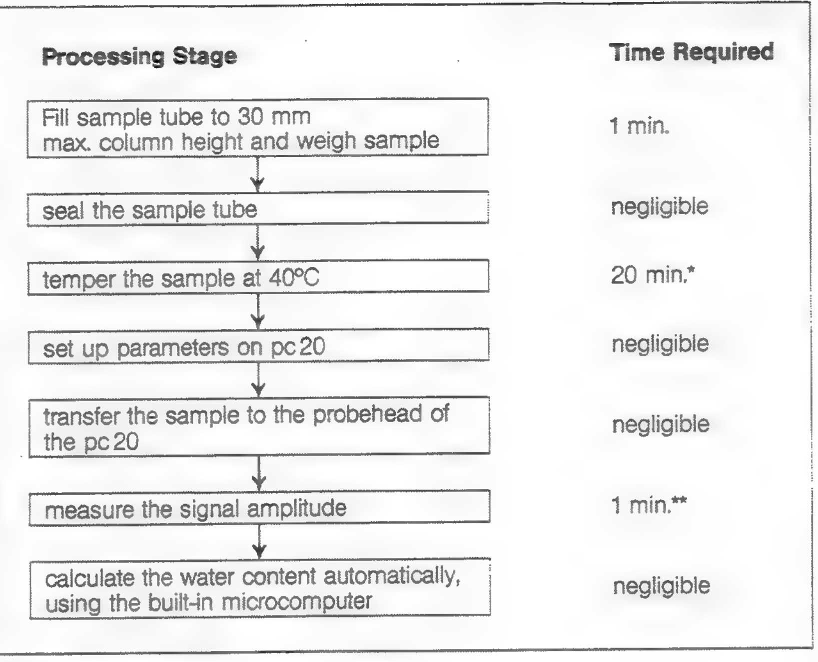


Fig. 5
Water Content Determination – Sequence of Events

* *Tempering time is negligible, when the sample temperature is the same as the minispec magnet temperature (ca. 40°C)*

** *The measurement time is dependent upon the required accuracy, e.g. an accuracy of ±1% requires a measurement time of 72 s.*

ally to the microprocessor, thus saving the time normally required for keying in this value. By far the largest amount of time is taken up in tempering the samples. The time required for this stage depends on: the chosen measuring temperature, the temperature of the available pulp, the efficiency of the heat transfer during tempering.

The time required for the various stages in the determination of the water content of dried pulp is shown in **Fig. 5**.

Measurement accuracy:

mean absolute error	0.0010 kg W/kg P
mean relative error	0.99 %
standard deviation of the absolute error	0.0008 kg W/kg P
correlation coefficient	0.9970

(W = water, P = pulp)

3 Determination of the Water Content of Pulped Sugar Beet in Wet Pulp and Pressed Pulp Forms

3.1 Sample Preparation and Measurement of the Water Content Reference Values

To prepare samples having different water contents, quantities of pressed pulp and wet pulp and mixtures of the two are packed into 11 mm dia. by 45 mm long glass tubes. The tubes are sealed and then fitted into the actual measurement tubes. For successful measurements certain rules should be observed:

1. To obtain the largest possible signal, it is important that the samples are well packed into the tubes.
2. The height of the sample column should not exceed 27 mm, and on no account exceed 30 mm.
3. The inner sample tubes must be sealed, so as to prevent evaporation from the samples. When using the 45 mm long sample tube, the seal itself will lie within the r.f. measuring coil and must, therefore, consist of a proton-free material. The use of precision-machined P.T.F.E. stoppers is recommended.

To obtain the water content reference values, the samples are dried, following the NMR measurements, under vacuum at 105 °C until constant weight is attained. To keep measurement errors as small as possible, it was found to be necessary to dry the samples, while still in the measurement tubes. Due to the very small surface area available, the drying time under these circumstances will be some 15 hours.

3.2 Pulse Sequence and Parameter Adjustment for "minispec pc 20"

Initial experiments, in which values were calculated from the decaying signal resulting from a single 90° pulse, produced unsatisfactory results. Good correlation was achieved, when using a 90°–180° pulse sequence and the Carr-Purcell pulse sequence.

The 90°–180° pulse sequence produces an echo signal at time 2τ; for each sample, the echo amplitude is measured in volts per unit mass (**Fig. 6**).

The Carr-Purcell pulse sequence produces a signal from which the spin-spin relaxation rate $1/T_2$ can be calculated (**Fig. 7**). With both of these measuring methods, it is possible to determine a particular value of water content by reference to a calibration curve.

Fig. 6
Signal decay resulting from a 90°-180° pulse sequence.

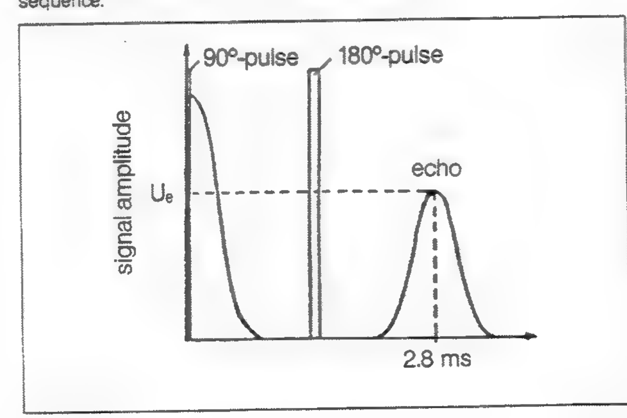
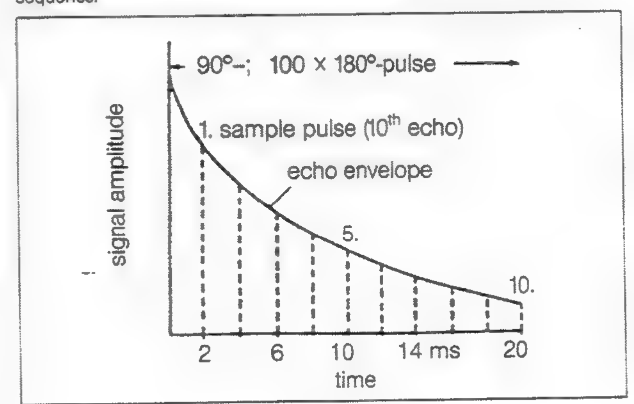


Fig. 7
Signal decay resulting from a Carr-Purcell pulse sequence.



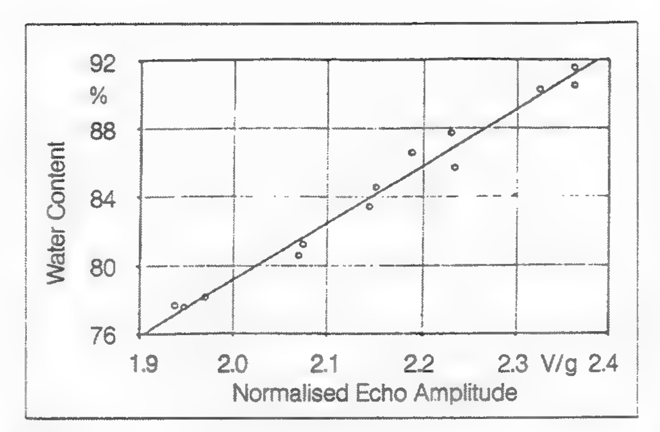


Fig. 8
Dependence of the weight-proportional echo amplitude on the water content of pressed and wet sugar beet pulps.

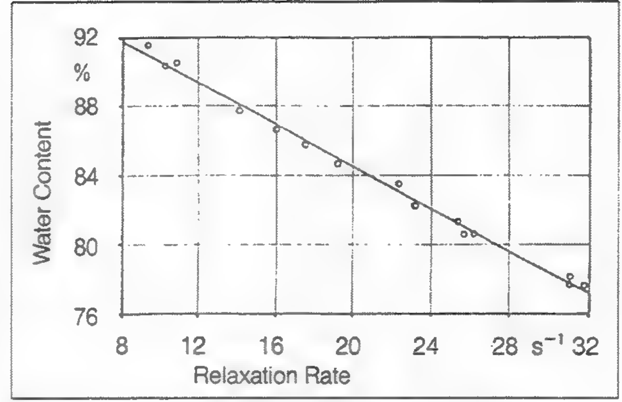


Fig. 9
Dependence of the spin-spin relaxation rate on the water content of pressed and wet sugar beet pulps.

The following measurement parameters were used:

Pulse sequence	**90°-180°**	**C-P**
detection mode	diode	diode
bandwidth	min.	min.
pulse delay	1.4 ms	100 µs
repetition time	3 sec	3 sec
attenuation	40 dB	40 dB
no. of scans	25	4

The results are shown in **Fig. 8** and **9**.

3.3 Discussion of Results

At higher values of water content, the resulting signal amplitude shows little dependence on the actual water content (see **Fig. 4** – the curve becomes very steep for water content values above 25 %). At these values, therefore, the effects of interference become prominent. The 180° refocusing pulse of a 90°-180° pulse sequence counteracts the effect of inhomogeneity in the magnetic field (H_0) of the permanent magnet on the signal amplitude. The Carr-Purcell sequence, instead, compensates additionally for some of the effects of inhomogeneity in the H_1 field of the r. f. coil, since T_2 (and with it $1/T_2$) is calculated not from an absolute measurement, but from a series of amplitudes measured at different times. For this reason, a better correlation results, when the Carr-Purcell pulse sequence is used.

3.4 Accuracy and Measurement Times

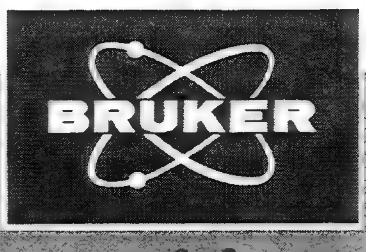
The main source of error is the overfilling of the sample tube (the pulp in the sample tube expands again after packing). Most of the effect is observed, when using the 90°-180° pulse sequence, since inhomogeneity of the H_1 field, produced by overfilling of the sample tube, results in a smaller deviation of the magnetisation vector and, therefore, a smaller measured amplitude. Futher factors affecting accuracy are the number of accumulations, temperature fluctuations and weighing errors.

Again, ignoring possible errors in measuring the reference samples, the following results were achieved.

Because of its simplicity, the 90°–180° pulse sequence recommends itself for routine measurements. The mean absolute error of 0.59 % water (at water content values > 80 %) is very good for practical purposes. The time required for the measurement is as described in section 2.4.

Measurement Accuracy:

Pulse sequence	**90°–180°**	**C-P**
mean absolute error	0.0059	0.0032 Kg W/Kg P
mean relative error	0.70 %	0.36 %
standard deviation of the absolute error	0.0037	0.0016 Kg W/Kg P
correlation coefficient	0.9792	0.9943



Routine Determination of the Total Fat Content of Chocolate by Pulsed NMR Using the minispec pc 20

Dr. S. A. Jones, BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, W-Germany

The BRUKER minispec pc 20 is a highly compact, micro processor-controlled, low-resolution pulsed NMR spectrometer. Like its predecessor the minispec p 20 i it has found widespread application in many areas of the food industry both in routine quality control and research-oriented uses.

Amongst the measurements which have been successfully carried out with this instrument are the following:

- ☐ determination of water in foodstuffs
- ☐ determination of total fat content in foodstuffs
- ☐ measurement of the solid content of partially crystallized fats[1]
- ☐ determination of oil and water in emulsions[2]
- ☐ simultaneous and non-destructive determination of oil and water in seeds[3]

The principal advantages of the minispec over traditional chemical analytical methods such as solvent extraction have been found to be the speed and reproducibility with which the results are obtained. Analyses usually take only seconds or minutes to complete and in most cases are non-destructive. The results are calculated automatically by the instrument's microprocessor and a permanent hard copy is provided by the built-in printer.

NMR methods have been used in the past in the routine analysis of food products but these have largely utilized the continuous-wave (c.w.) technique. The minispec pc 20, on the other hand, employs pulsed NMR methods in which all measurements are made in the time domain. This technique has many advantages over the c.w. method for routine measurements. In particular, the required measurement time is normally very much smaller which allows a much greater throughput of samples. Also the operating frequency of the minispec (20 MHz) is considerably higher than those for other NMR spectrometers designed for routine applications which means higher sensitivity and hence greater accuracy of results.

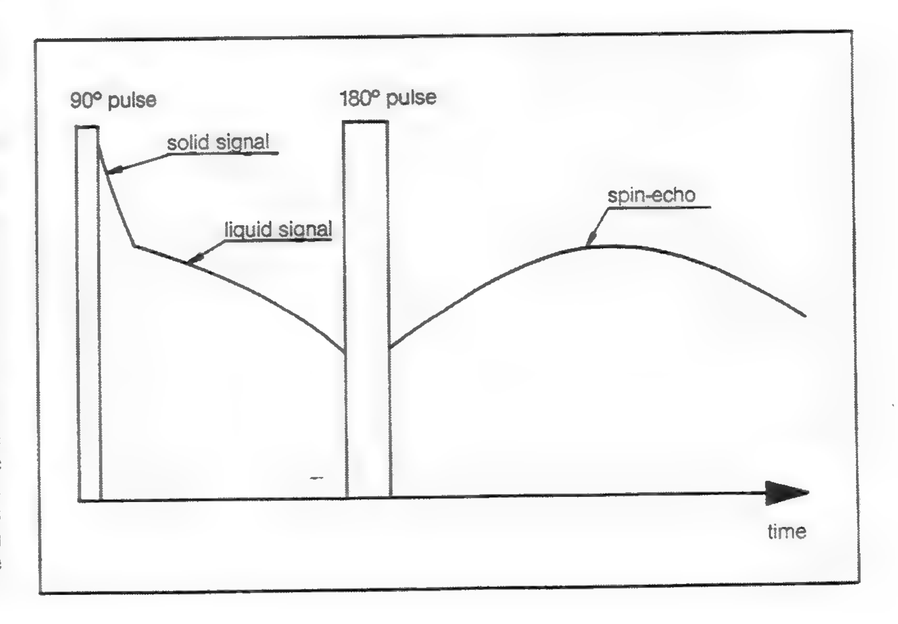
Applications of the minispec to cocoa products have been described before[4] but it is the purpose of this report to describe a highly-automated procedure for the determination of the total fat content of chocolate. The conventional method for performing this analysis is by Soxhlet or Mojonnier extraction. The former method is simpler but is time-consuming. Mojonnier extraction uses a chemical pretreatment step and therefore removes fat more efficiently and is less likely to give false results as a consequence of "fat locking". It also requires less time than Soxhlet extraction. However, both methods require a trained technician and necessitate the purchase, handling and disposal of flammable and possibly noxious solvents. By contrast, using the NMR technique, a direct read-out of the percentage fat can be obtained in a total time of less than 30 minutes including sample preparation, thermal equilibration and measurement. The time required for the actual measurement is of the order of only a few seconds.

Principle of Measurement

When a sample is placed between the poles of the magnet in an NMR spectrometer the protons (hydrogen nuclei) contained within the sample become polarized such that there exists a net magnetization aligned parallel to the magnetic field. The magnitude of this magnetization can be measured by applying a second magnetic field perpendicular to the first in the form of a pulse of radiofrequency radiation which rotates the magnetization into the plane perpendicular to the field (a "90° pulse"). In this plane the magnetization induces a signal in the receiver coil of the spectrometer the initial amplitude of which is proportional to the number of hydrogen nuclei in the sample.

If the sample consists of more than one phase the observed signal contains several components which are superimposed (see **Figure 1**). Each of these components decays with a characteristic time constant. For instance, signals

Figure 1:
Signal and pulse sequence used in the determination of fat content by pulsed NMR.



due to solid materials decay very much more rapidly than those due to liquids. In order to measure the amplitude of the signal due only to the liquid a so-called "spin-echo" technique is used. If a second radiofrequency pulse of approximately twice the duration of the first (a "180° pulse") is applied a short time, say 200 μs, after the 90° pulse the signal due to the liquid part of the signal is refocussed. The resulting signal is called a "spin-echo"[5] and its amplitude is directly proportional to the quantity of liquid material in the sample. A particular advantage of the spin-echo technique for the analysis of chocolate products is that it is insensitive to the iron contamination which sometimes occurs during the refining of cocoa beans. The presence of iron causes a degrading of the magnetic field used in the NMR experiment and thereby a broadening of the line due to the liquid component of the sample. This makes c. w. analyses of iron-contaminated products unreliable. Although the shape of the spin-echo is also changed by the presence of iron the maximum amplitude, which is the quantity of interest, is unaffected.

The procedure followed for the determination of the fat content of chocolate using the minispec pc 20 is as follows:

- ☐ All the samples must be equilibrated at 50°C. At this temperature the cocoa fat is completely melted and the signal due to the liquid component can be identified with the signal due to the total fat content. Thus the amplitude of the spin-echo is directly proportional to the amount of fat present.
- ☐ The instrument must be calibrated with samples of known fat content. The percentage fat of each calibration sample must be entered and also the sample weight (either manually or via the instrument's digital balance interface). The signal amplitude for each sample is then measured and a calibration line of specific signal (signal per gram) versus percentage fat is calculated by linear regression analysis. The calibration parameters (slope and intercept of the calibration line) are stored in the instrument's microprocessor.
- ☐ To measure the fat content of an unknown sample after calibration only the sample weight needs to be entered; the signal amplitude is measured, the percentage of fat is calculated automatically and the result is displayed.

Results

The linear relationship between the NMR signal amplitude and the fat content of the chocolate is shown in **Figure 2** which depicts the calibration curve obtained by measuring the specific signal for five chocolate samples, the percentage fat of which had previously been determined by Soxhlet extraction. As can be seen, a very good linear fit was obtained (correlation coefficient = 0.995). The equation of the calibration line is:

$$S = 0.0412P + 0.1255$$

where S is the specific signal (signal/g) and P is the percentage by weight of fat.

After calibration, the percentage fat of each of the five samples was measured. The results are listed in **Table 1.** The reproducibility of the measurements is impressive especially when it is noted that the total length of time required for each measurement was only approximately ten seconds.

Summary

We have seen that using the BRUKER minispec pc 20 it is possible to determine the total fat content of chocolate rapidly, accurately and with a high degree of reproducibility. The particular advantages of this fast measurement are the large throughput of samples which is possible and the possibility of very rapid feedback to the plant for process control. In addition the level of training required of the minispec operator is very low since in routine use the instrument is highly automated and all calculations are performed by the microprocessor greatly reducing the likelihood of computational errors. Also there are none of the problems associated with the handling and disposal of flammable and possibly noxious solvents which are encountered when the method of solvent extraction is used.

Another attractive feature of the minispec is the ease with which different applications can be performed. This generally involves simply inserting a different preprogrammed Experiment Definition Module into the front panel of the instrument. However, in certain cases it is also necessary to use a different design of probehead. An example which may be of particular interest to chocolate manufacturers is the determination of solid fat indices[1]. Exchange of probeheads is easily accomplished but even this necessity can be removed by the possibility of operating two magnets, fitted with different probeheads, from the same electronic console.

Percentage Fat by Soxhlet Extraction	**Percentage Fat by NMR[a]**	**Standard Deviation**
27.4	27.3	0.06
29.2	29.0	0.06
31.6	31.7	0.05
32.0	32.1	0.03
33.0	32.8	0.03

a: Results by NMR are the averages of three separate measurements.

References

(1) K. van Putte, BRUKER minispec application notes 4, 5 and 6.
D. Waddington, BRUKER minispec application note 8.

(2) E. Brosio, F. Conti and A. Di Nola, J. Amer. Oil Chem. Soc. **59**, 59 (1982).

(3) P. N. Tiwari, BRUKER minispec application note 9.
P. N. Tiwari and W. Burk, BRUKER minispec application note 11.
E. Brosio, F. Conti, A. Di Nola, O. Scorano and F. Balestrieri, J. Fd. Technol. **16**, 629 (1981).

(4) J. McCarten, BRUKER minispec application note 2.

(5) E. L. Hahn, Phys. Rev. **80**, 580 (1950).

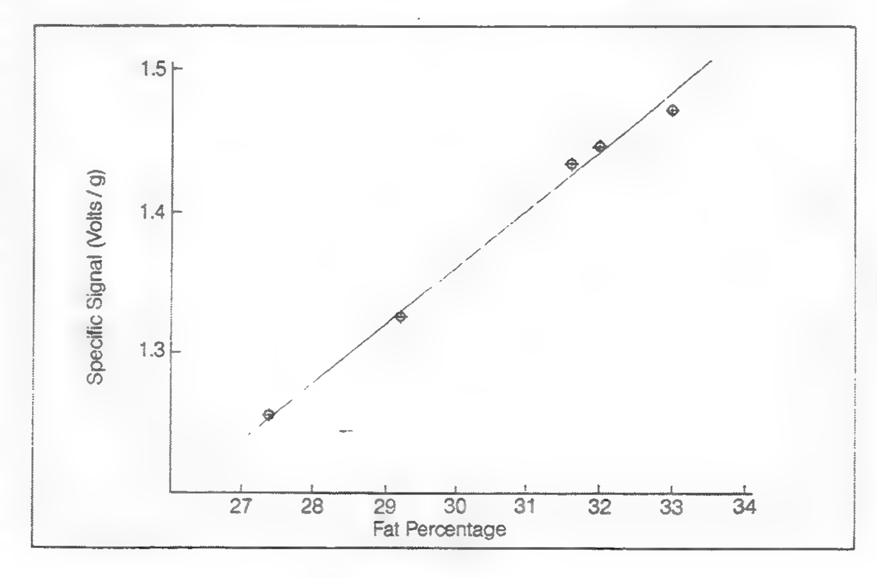
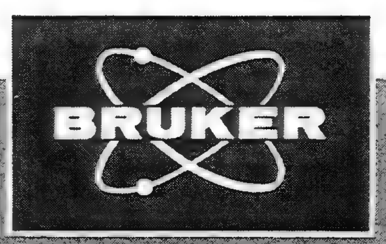


Figure 2:
Calibration graph of specific NMR signal against total fat percentage for five chocolate samples.



minispec application note 15

Determination of the Water Content of Glucose by Pulsed NMR

Dr. S. A. Jones, BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West-Germany

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy has, in the comparatively short time since it was first used, rapidly developed into one of the most powerful analytical tools available today. It has found application in almost all fields of modern science from solid state physics to biochemistry and medicine and is now used in research laboratories, both in industry and universities, throughout the world.

The majority of NMR spectrometers are complex pieces of equipment which require highly trained operators both to obtain and interpret the results. However, in recent years a highly-automated and compact spectrometer has been developed which is suitable for use by operators with only a minimum of training and which is even, in many cases, adaptable for on-line applications. This spectrometer is the BRUKER minispec pc 20. It utilises the principles of "pulsed" NMR and, like its predecessor the minispec p 20 i, it has found widespread application in a variety of industrial and research establishments both in routine quality-control and more sophisticated uses. The instrument is controlled by a microprocessor and many calculations can be performed automatically. The microprocessor also enables signal averaging to be performed, which improves the accuaracy of the results.

The principal advantages of the minispec over traditional chemical analytical methods have been found to be the speed and reproducibility with which the results are obtained. Analyses usually take only seconds or minutes to complete and are non-destructive. These features are likely to be of particular usefulness in situations where rapid feedback of results is important, for instance in quality or process control.

To date the most common applications of the minispec have been in the food industry although it has also been used in the chemical industry and in medical applications. Amongst the measurements which have been carried out are the following:

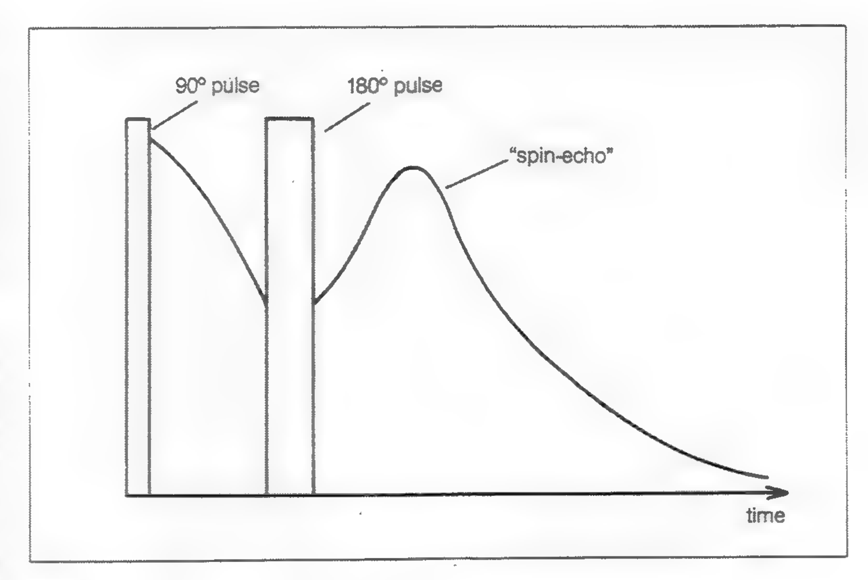


Figure 1
Pulse sequence and signal observed in the determination of water content by pulsed NMR.

- ☐ measurement of the solid content of partially crystallised fats
- ☐ determination of oil or fat in a variety of foodstuffs, e. g. chocolate, oil-bearing seeds
- ☐ determination of the hydrogen content of hydrocarbons
- ☐ measurement of relaxation times of tissues
- ☐ determination of oil and water in emulsions

This report describes a rapid and easy to perform method for the determination of the water content of a chemical product, in this case glucose. Water content is an important parameter in a variety of industries since it affects properties as diverse as the handling characteristics of powders and the shelf-life of foodstuffs. Traditional methods of water determination include oven-drying and Karl Fischer titration. These are both labour-intensive procedures which, especially in the latter case, require highly trained personnel. Karl Fischer titration also involves the purchase, handling and disposal of noxious chemicals. The major practical disadvantage of both methods is that they are time-consuming. Pulsed NMR is a fast and reliable alternative to these methods.

Theory

When a sample is placed between the poles of the magnet in an NMR spectrometer the protons (hydrogen nuclei) contained within the sample become polarized such that there exists a net magnetization aligned parallel to the magnetic field. The magnitude of this magnetization can be measured by applying a second magnetic field perpendicular to the first in the form of a pulse of radiofrequency radiation which rotates the magnetization into the plane perpendicular to the field (a 90° pulse).

The magnetization rotates in this plane and induces a signal in the receiver coil of the spectrometer the initial amplitude of which is proportional to the number of hydrogen nuclei in the sample.

If the sample consists of more than one phase the observed signal contains several components which are superimposed. Each of these components decays with a characteristic time constant. For instance, signals due to solid materials decay very much more rapidly than those due to liquids. In order to measure the amplitude for the signal due only to the liquid a so-called "spin-echo" technique is used. If a second radiofrequency pulse of approximately twice the duration of the first (a "180° pulse") is applied a short time, say 200 µs, after the 90° pulse the signal due to the liquid part of the signal is refocussed (see **Figure 1**). The resulting signal is called a "spin-echo" and its amplitude is directly proportional to the quantity of liquid material in the sample.

The general procedure followed for the determination of water content as described in this report using the minispec pc 20 is as follows:

- ☐ The instrument must be calibrated with at least three samples of known water content. The percentage water of each calibration sample must be entered and also the sample weight (either manually or via the instrument's digital balance interface). The signal amplitude for each sample is then measured and a calibration line of specific signal (signal per gram) versus percentage water is calculated by linear regression analysis. The calibration parameters (slope and intercept of the calibration line) are stored in the instrument's microprocessor.
- ☐ To measure the water content of an unknown sample after calibration only the sample weight needs to be entered; the signal amplitude is measured, the percentage of water is calculated automatically and the result is displayed.

Results

A series of glucose samples containing water in the range of 0–5 % was prepared and allowed to equilibrate overnight. The spin-echo amplitude was then measured for each sample as described in the preceding section and the calibration parameters calculated and stored. In each case four signal accumulations were averaged. The interval between accumulations was 4 seconds which means that the total measuring time was less than 20 seconds per sample.

The calibration line is shown in **Figure 2.** The linear correlation coefficient is 0.998.

Following calibration each sample was measured against the calibration line. The results are shown in **Table 1** together with the standard deviation of the NMR results over five separate measurements. The accuracy and reproducibility of the measurements are self-evident; in the worst case the standard deviation is only 0.04 per cent.

Table 1

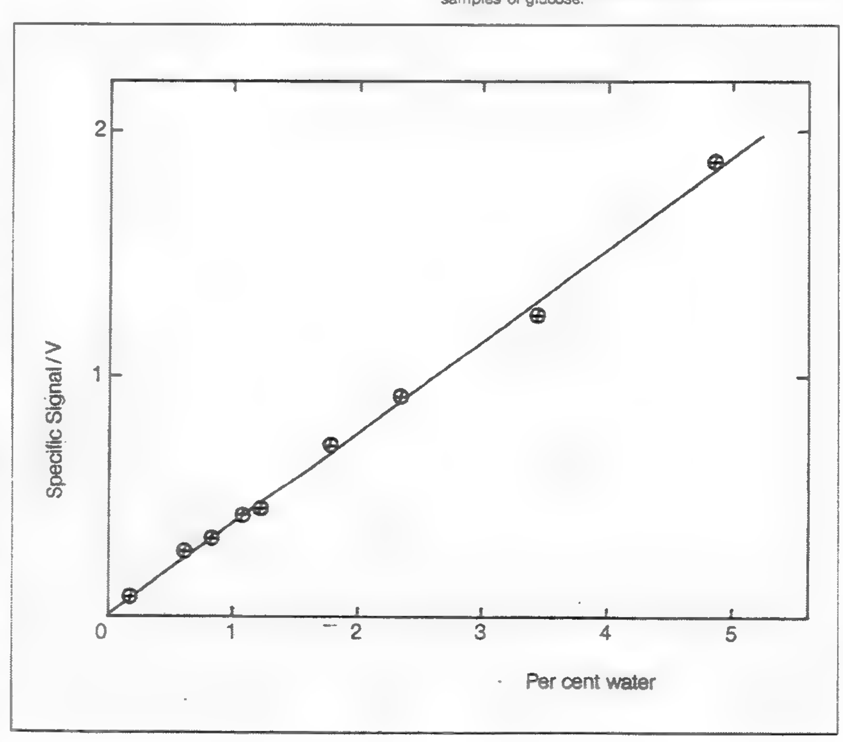
Per Cent Water (prepared)	Per Cent Water (measured)	Standard Deviation
4.86	4.96	0.04
3.43	3.29	0.01
2.35	2.43	0.02
1.78	1.84	0.02
1.22	1.18	0.03
1.09	1.09	0.02
0.84	0.86	0.01
0.71	0.74	0.01
0.19	0.27	0.01

Conclusions

It has been shown that pulsed NMR is an attractive alternative method for the determination of water in chemicals. The water content of glucose samples in the range 0–5 per cent was accurately and rapidly determined. The minispec is equally suitable for the determination of water in other ranges of concentration although it is desirable that the calibration samples lie in the same range as the samples to be measured. Up to twenty sets of calibration parameters can be stored simultaneously enabling samples of different products to be measured without recalibration. The appropriate calibration curve number is simply selected from the keypad.

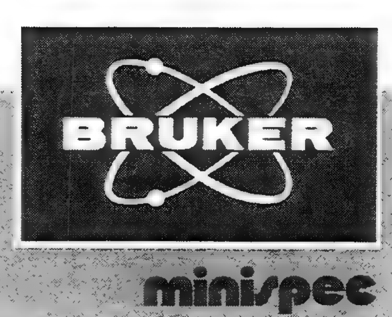
The only restriction on the applicability of this method is that other liquid phases should not interfere with the signal due to the water. The method is therefore applicable to chemicals and pharmaceuticals as well as to a range of foodstuffs or other products for which rapid and accurate measurements of water content are required.

Figure 2
Plot of specific signal against percentage of water for samples of glucose.



Direct Determination of the Oil Content of Sunflower Seeds Which Contain Small Quantities of Water

DR. S. A. JONES
BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West-Germany



minispec application note 17

The use of Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy to measure the oil content of oilseeds such as sunflower has in recent years become well-established (*1, 2*). The main use of such measurements is to aid in plant breeding work aimed at improving overall yields of oil. Because the NMR technique is non-destructive it permits direct propagation of seeds.

Continuous-wave (c. w.) NMR methods were originally used but more recently the superior pulsed NMR technique has come into use. A problem with all the NMR methods is that the seeds usually contain a low level of moisture which interferes with the measurement. This report describes a simple and direct measurement of the oil content of sunflower seeds which eliminates the effect of the small quantity of moisture present.

Theory

Two variants of the pulsed NMR method have been proposed: a simple measurement of the signal amplitude following a single radiofrequency pulse (*1*), and a so-called solid-liquid ratio method (*2*). The latter depends on the moisture content of the seeds being constant and was found to give less accurate results. In the former method the signal amplitude can be measured 70 µs after a so-called "90°" radiofrequency pulse. At this point the signal due to the solid part of the seed (carbohydrates, protein) has decayed to zero. The signal due to the water persists, however. If the seeds are dried at 105°C the water is removed but the seeds do not remain viable. Drying at 60°C removes some of the water and the measuring point can be shifted to around 110 µs by which time the signal due to the rest of the water has virtually disappeared. However at this point the signal amplitude shows a small dependence on the angular position of the seeds in the sample tube.

If, after a time τ, a second radiofrequency pulse of about twice the length of the first (a "180°" pulse) is applied, the signal is refocussed and after a further time τ a so-called "spin-echo" is formed (*3*). The amplitude of this spin-echo is the sum of the contributions due to each component in the sample which are given by

$$A(2\tau) = A_0 \exp[-(2\tau/T_2 + D)]$$

where A_0 = the amplitude immediately following the first pulse

D = a term related to the self-diffusion coefficient

and T_2 = the spin-spin relaxation time, the time constant for the decay of the signal.

Because T_2 for sunflower oil is about ten times as long as that for the moisture in the seeds it is possible to select a value of τ at which the oil signal persists but the contribution of the moisture is zero. The signal amplitude is then directly proportional to the oil content. Hence, after prior calibration, if the signal amplitude is measured the percentage of oil in the sample can be calculated.

Experimental

A BRUKER minispec pc 110 bench-top pulsed NMR spectrometer equipped with a 25 mm diameter probehead was used. The instrument was calibrated with three sunflower oil samples at each of several different τ values (it is possible to store up to 20 sets of calibration parameters simultaneously). The oil contents of two sunflower seed samples were then measured against these calibrations. The two samples had quoted water contents of approximately 3%. The sample size, incidentally, was approximately 6 g i. e. large enough to statistically represent a crop of sunflower seeds (*1*).

Results

Fig. 1 shows a plot of the measured oil percentage for both samples against the τ value i. e. the interval between the two radiofrequency pulses ($\tau = 0$ corresponds to measurement at 70 µs on the signal following the first pulse). In both cases the measured oil percentage falls by about 3% as the interval between the pulses is increased from 0 to 1 ms and thereafter remains constant. This constant value corresponds to the true oil content of the sample. The higher values obtained with smaller values of τ indicate the contribution of the moisture.

Conclusions

Using the spin-echo method it was possible to measure directly the oil content of sunflower seeds even in the presence of moisture. It is important, however, that a suitable τ value is used – at higher water contents the T_2 of the moisture would probably be longer and it would be necessary to use a longer value.

The spin-echo method has been criticized (*1*) on the grounds that it depends on the spin-spin relaxation time of the oil being constant, which is not always the case. However, with $\tau = 1$ ms and T_2 around 100 ms a ten per cent variation in T_2 would give rise to a variation of only about 0.1% in the measured oil percentage.

A further point of interest is that the difference in the measured oil percentage using the spin-echo method and that obtained by measuring the signal following the 90° pulse could be used to measure indirectly the moisture content of the seeds.

References

(*1*) P. N. Tiwari, BRUKER minispec application note no. 9

(*2*) P. N. Tiwari and W. Burk, J. Amer. Oil Chem. Soc. **57**, 119 (1980)

(*3*) E. L. Hahn, Phys. Rev. **80**, 580 (1950)

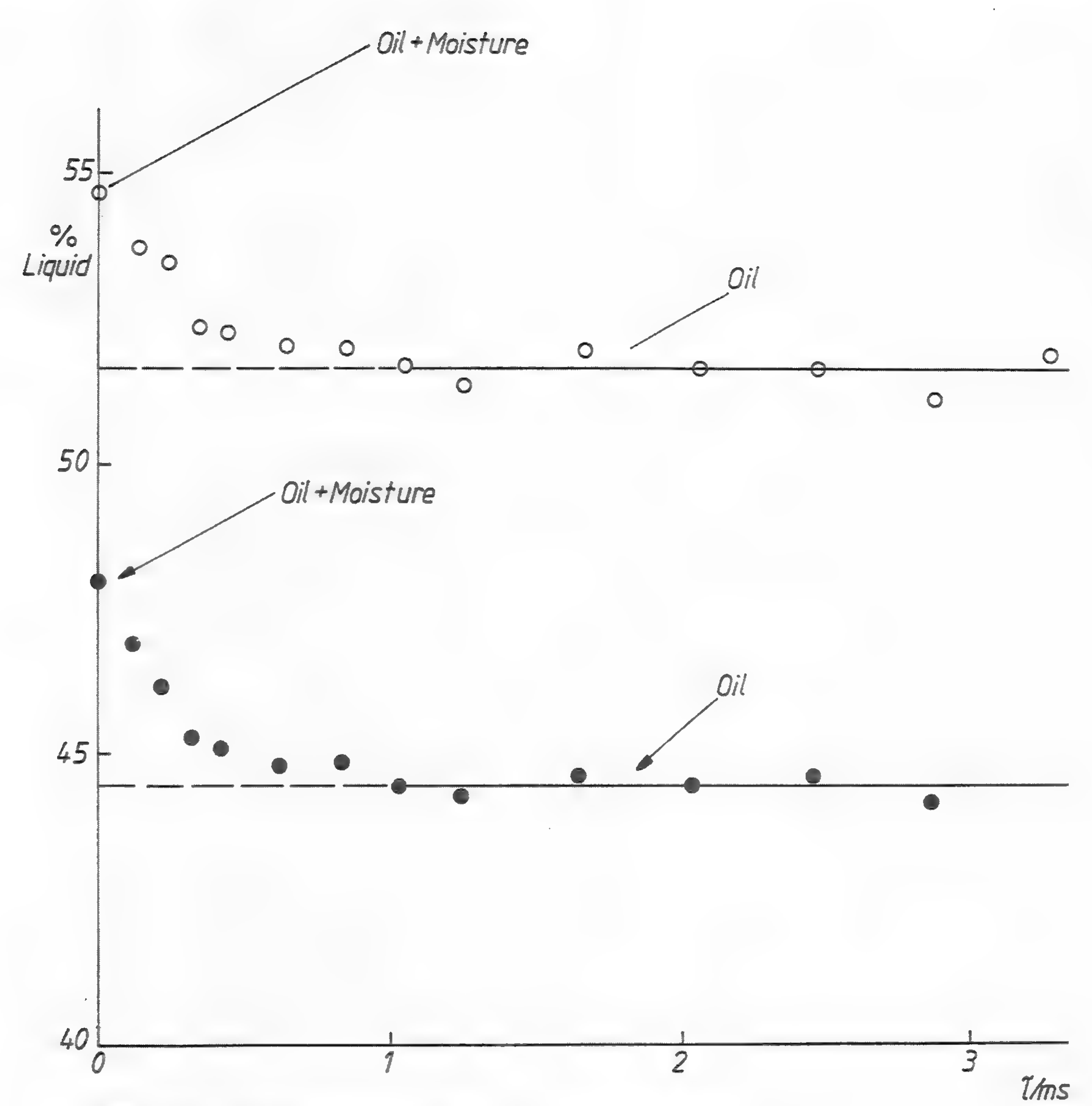
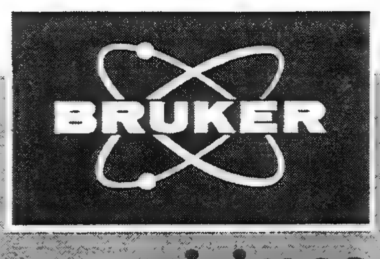


Figure 1:
Plot of measured % liquid against τ, the interpulse spacing, for two-sunflower seed samples. Note how, at τ values of greater than 1 ms, the contribution of the moisture is zero.



minispec application note 18

Determination of Fat in Dried Sausage Samples Using Pulsed NMR

DR. S. A. JONES
BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, D-7512 Rheinstetten 4, West Germany

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy has, in the comparatively short time since it was first used, rapidly developed into one of the most powerful analytical tools available today. It has found application in almost all fields of modern science from solid state physics to biochemistry and medicine and is now used in research laboratories, both in industry and universities, throughout the world.

The majority of NMR spectrometers are complex pieces of equipment which require highly trained operators both to obtain and interpret the results. However, in recent years a highly-automated and compact spectrometer has been developed which is suitable for use by operators with only a minimum of training and which is even, in many cases, adaptable for on-line applications. This spectrometer is the BRUKER minispec pc 120. It utilises the principles of "pulsed" NMR and, like its predecessor the minispec pc 20, it has found widespread application in a variety of industrial and research establishments both in routine quality control and more sophisticated uses. The instrument is controlled by a microprocessor and many calculations can be performed automatically. The microprocessor also enables signal averaging to be performed, which improves the accuracy of the results.

The principal advantages of the minispec over traditional chemical analytical methods have been found to be the speed and reproducibility with which the results are obtained. Analyses usually take only seconds or minutes to complete and are non-destructive. These features are likely to be of particular usefulness in situations where rapid feedback of results is important, for instance, in quality or process control.

To date the most common applications of the minispec have been in the food industry although it has also been used in the chemical industry and in medical applications. Amongst the measurements which have been carried out are the following:

- ☐ Measurement of the solid content of partially crystalized fats
- ☐ Determination of oil or fat in a variety of foodstuffs e. g. chocolate, oil-bearing seeds
- ☐ Determination of the hydrogen content of hydrocarbons
- ☐ Measurement of relaxation times of tissues
- ☐ Determination of oil and water in emulsions
- ☐ Determination of water in various products.

This report describes the use of the minispec to determine the fat content of dried sausage samples. The method is equally applicable to other types of meat products.

Theory

When a sample is placed between the poles of the magnet in an NMR spectrometer the protons (hydrogen nuclei) contained within the sample become polarized such that there exists a net magnetization aligned parallel to the magnetic field. The magnitude of this magnetization can be measured by applying a second magnetic field perpendicular to the first in the form of a pulse of radiofrequency radiation which rotates the magnetization into the plane perpendicular to the field (a "90° pulse"). The magnetization rotates in this plane and induces a signal in the receiver coil of the spectrometer the initial amplitude of which is proportional to the number of hydrogen nuclei in the sample.

If a sample consists of more than one component the signals due to each of these are superimposed. The signal due to each component decays with a characteristic time constant. The method described in this report for the determination of fat in dried sausage makes use of the fact that the signal due to the fat decays more slowly than that due to the solid part of the sausage (protein etc.), which decays to zero in a very short time (approximately 50 µs). The amplitude of the signal at a longer time than this is therefore proportional to the amount of fat present in the sample.

The general procedure used is as follows:

- ☐ The samples must be thermostatted at a sufficiently high temperature that no solid fat is present. In the present work 40°C was found to be suitable.
- ☐ The instrument must be calibrated with at least three samples of known fat content. The percentage fat of each sample must be entered and also the sample weight (either manually or via the instrument's digital balance interface).
- ☐ The signal amplitude for each sample is measured and a calibration line of specific signal (signal per gram) versus percentage fat is calculated by linear regression analysis. The calibration parameters (slope and intercept of the calibration line) are stored in the instrument's microcomputer.
- ☐ To measure the fat content of an unknown sample after calibration only the sample weight needs to be entered; the signal amplitude is measured, the percentage fat is calculated automatically and the result is displayed.

Results

The signal amplitude 70 µs after a 90° pulse was measured as described in the preceding section for a series of dried sausage samples containing known percentages of fat in the range 5–50 %. For each sample 4 scans were averaged. The interval between scans was only 2 seconds and so the total measuring time per sample was less than 10 seconds.

Fig. 1 shows the calibration line of specific signal against percentage of fat. The linear correlation coefficient is 0.996.

Following calibration each sample was measured against the calibration line. The results are shown in **Table 1.** Agreement between the given values and those obtained with the minispec is seen to be good. Furthermore the reproducibility of the results is very good (standard deviation of 10 measurements typically better than 0.1 per cent).

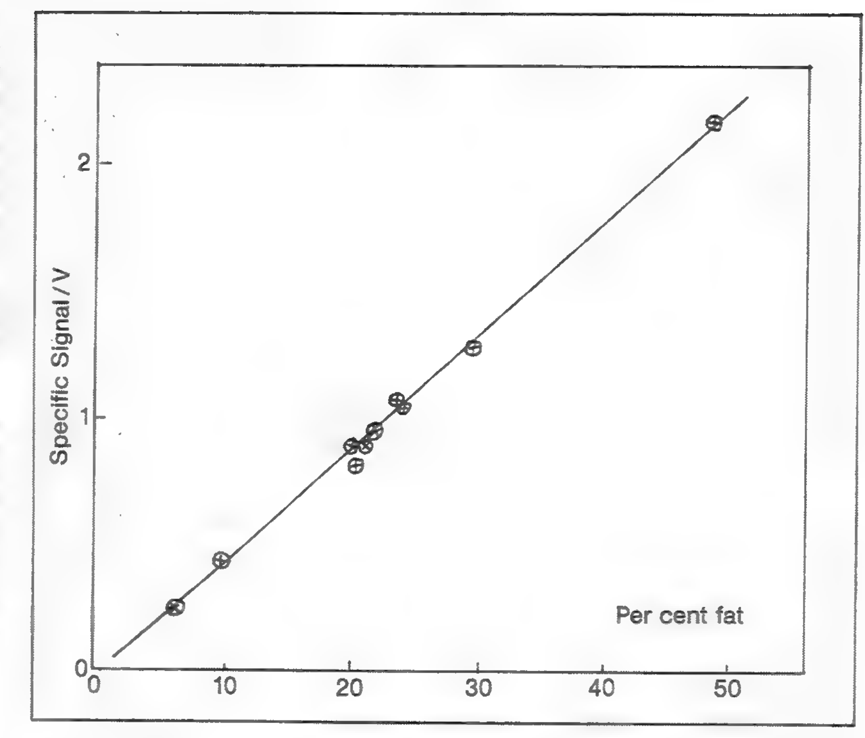


Fig. 1:
Calibration graph of specific signal (signal per gram) against percentage fat for dried sausage samples.

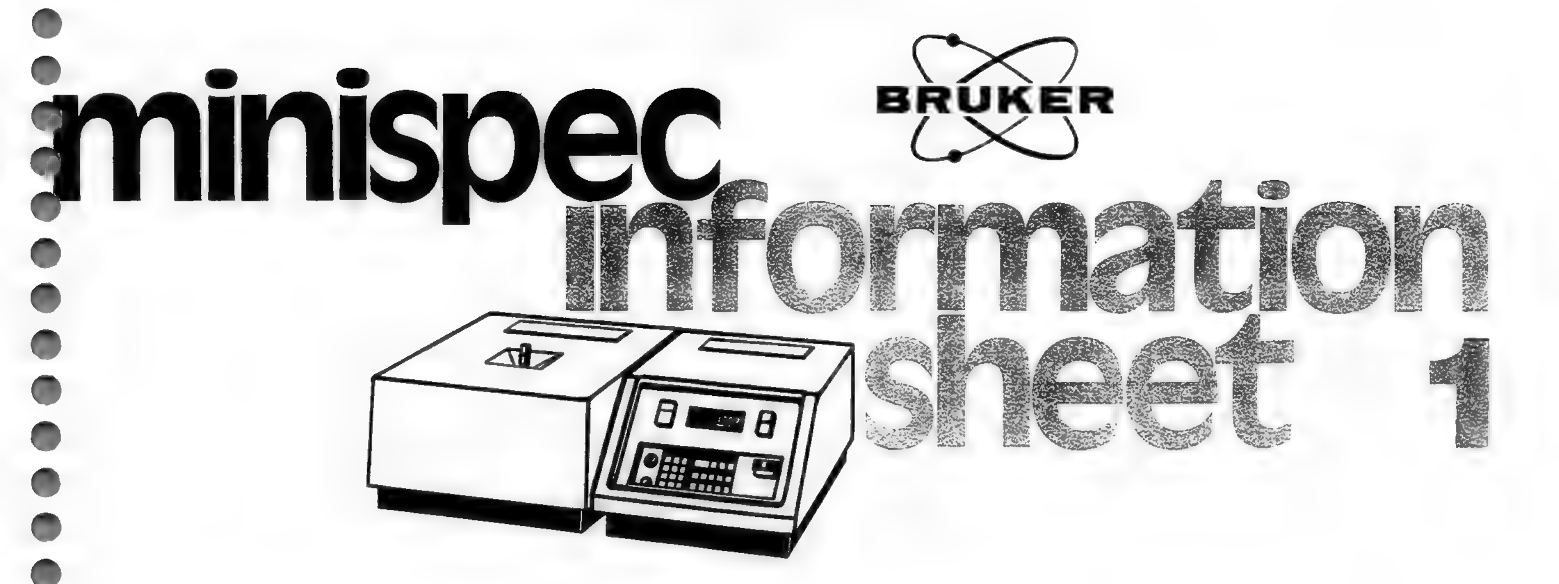
Conclusions

It has been shown that pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 is an attractive method for the determination of fat in sausage samples. After drying the samples, measurements of fat content can be carried out simply and rapidly. The results are accurate and reproducible. Up to twenty sets of calibration parameters can be stored simultaneously enabling different products to be measured without recalibration. The appropriate calibration line is simply selected from the keypad.

The minispec is easy to operate and all necessary calculations are performed by the microprocessor. The results are displayed automatically and, if desired, also printed-out on the built-in printer.

Table 1

Per cent fat (given)	Per cent fat (minispec)
6.2	6.3
9.6	10.2
20.0	20.4
20.1	18.4
20.8	20.5
21.6	21.8
23.7	24.5
23.8	24.0
29.6	29.0
48.4	48.7



Determination of the Cocoa Fat Content of Chocolate

The cocoa fat content of chocolate is a parameter which is of great importance to manufacturers of chocolate products.

The traditional method of determining the cocoa fat content of chocolate is by Soxhlet extraction. This involves extracting the fat with a suitable organic solvent. The fat percentage is calculated by measuring the weight loss of the sample on evaporation of the solvent, by evaporation of the solvent from the extract and weighing the residue, or by measuring the turbidity of the extract. The procedure is time-consuming and requires a trained technician. It involves the handling and disposal of flammable solvents. The repeated handling and measurement steps in the analysis result in many possible sources of error.

The use of pulsed NMR to determine the cocoa fat content of chocolate is a superior alternative to the traditional method of soxhlet extraction. The NMR technique is economical, requires little energy and yields results in seconds. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The timeliness and ease of acquisition of the results makes this technique invaluable for immediate in-line testing in a production or quality-control environment. The results are repeatable and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – Soxhlet extraction

- ☐ weigh sample
- ☐ extract oil with solvent
- ☐ calculate per cent fat

---

pc 20 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

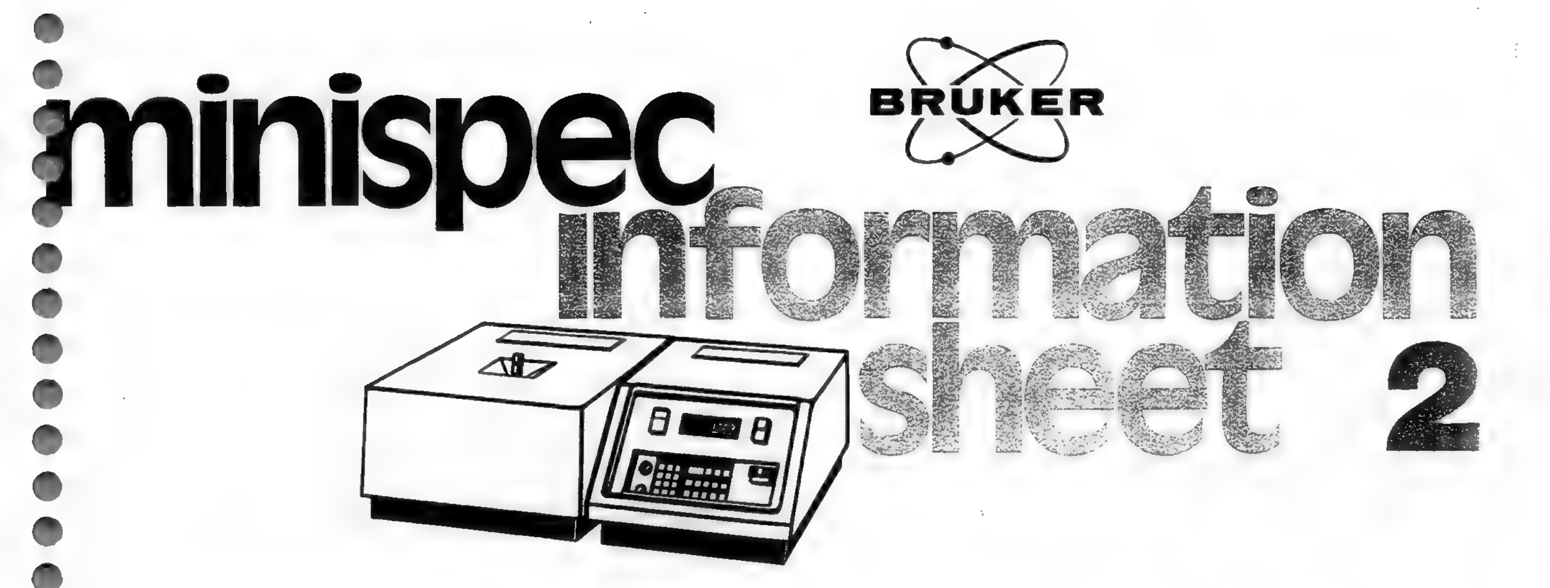
- ☐ weigh sample, weight can be entered automatically via digital balance interface
- ☐ thermostat samples at 40°C
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ percentage fat content is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 20 method

- ☐ results are obtained within seconds
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ automatic hard copy available

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Silberstreifen
D-7512 Rheinstetten 4 (West Germany)
Tel. (07 21) 51 61-0, Telex 7 826 836



Determination of the Fat Content in Cheese

Knowledge of the fat content of cheese or other processed dairy products is important to the manufacturers of these products and also to manufacturers who use them in making their own products.

The traditional method for the determination of the fat content in cheese is a lengthy procedure. The cheese is first dried and then ground to a powder and weighed. The fat is extracted with a suitable organic solvent and the fat content calculated by weighing the extracted cheese after driving off all the solvent, by evaporating the solvent off the extract and weighing the residue or by measuring the turbidity of the extract. The procedure is time-consuming and requires a trained technician. It involves the handling and disposal of flammable solvents. The repeated handling and measurement steps in the analysis result in many possible sources of error.

The use of pulsed NMR to determine the fat content of cheese is a superior alternative to the traditional method of solvent extraction. The NMR technique is economical, requires little energy and yields results in minutes. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The timeliness and ease of acquisition of the results make this technique invaluable in a production or quality-control environment. The results are reproducible and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – solvent extraction

- ☐ dry and grind up cheese
- ☐ weigh sample
- ☐ extract fat with solvent
- ☐ calculate per cent fat

pc 20 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

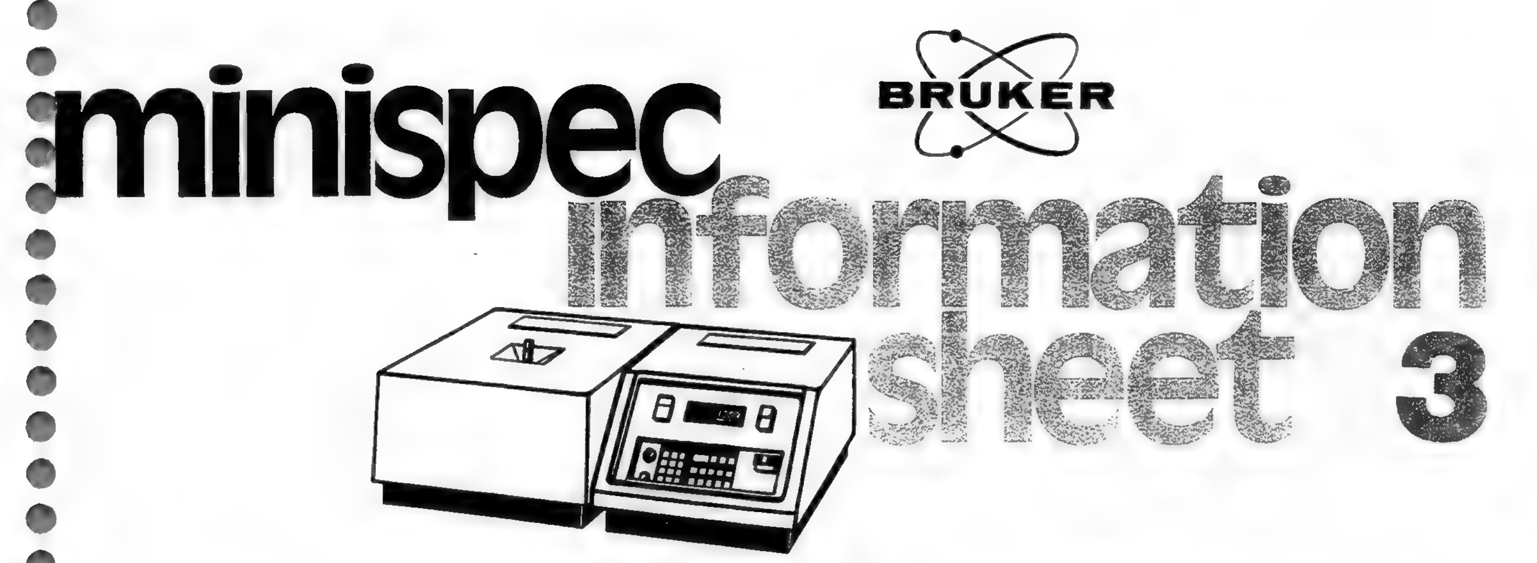
- ☐ dry cheese
- ☐ weigh sample, weight can be entered automatically via digital balance interface
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ per cent fat is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 20 method

- ☐ results are obtained rapidly
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ automatic hard copy available

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Silberstreifen
D-7512 Rheinstetten 4 (West Germany)
Tel. (07 21) 51 61-0, Telex 7 826 836



The Determination of Moisture in Tobacco

The moisture content of tobacco is a parameter of great importance to all processors of tobacco products since it determines smoking characteristics and shelf life. Tobacco is bought and sold by weight and a premium is paid for tobacco leaves which meet preset moisture specifications. Furthermore, customs duties for tobacco are based upon standard moisture contents.

The determination of the moisture content in tobacco products by the traditional method of oven-drying is a time-consuming process which takes several hours. It involves weighing the sample, heating at elevated temperatures to remove all the moisture present and re-weighing. The moisture content is calculated from the weight loss. This procedure is open to errors in sample weighing, data transcription and mathematical computation.

The use of pulsed NMR to determine the moisture content of tobacco products is a superior alternative to the traditional method of oven-drying. The NMR technique is economical, requires much less energy and results are obtained in minutes. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The timeliness and ease of acquisition of the results makes this technique invaluable for immediate in-line testing in a production or quality-control environment. The results are repeatable and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant and allowing closer moisture content tolerance standards to be established for product consistency.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – weight loss on drying

- ☐ weigh out samples
- ☐ heat in oven
- ☐ weigh again
- ☐ calculate per cent moisture from weight loss

pc 20 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

- ☐ weigh sample, weight can be entered automatically via digital balance interface
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ signal intensity following radiofrequency pulse (proportional to amount of moisture) is measured
- ☐ percent moisture is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 20 method

- ☐ results are obtained almost immediately, resulting in less "down-time", waiting for lab results, and the possibility of using moisture as a process control variable
- ☐ analysis can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ independent of operator technique, can set one analytical standard among plants or shifts
- ☐ automatic hard copy available
- ☐ less energy consumption

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Silberstreifen
D-7512 Rheinstetten 4 (West Germany)
Tel. (07 21) 51 61-0, Telex 7 826 836

minispec pc100

BRUKER



Typical Applications

Chemical Industry

Pulsed NMR as a routine method for the determination of the hydrogen content of hydrocarbons

M. de Pooter, Dow Chemical (Nederland) B. V., Terneuzen, The Netherlands



Content

Summary

A BRUKER minispec p 20 i has proven to be able to determine the hydrogen content of hydrocarbon mixtures like crude oil fractions and their cracking products with a reasonable accuracy and reproducibility.

When applying this method to pure hydrocarbons a relative standard deviation of 0.5% and an average recovery of 100.6% were obtained.

In view of these figures this fast and easy to perform NMR method can be very useful for process control and feedstock characterization. in the petroleum and petrochemical industry.

I. Introduction

The carbon to hydrogen ratio of various hydrocarbon mixtures in the hydrocarbon chemistry are an essential piece of information for process control.

In particular the kowledge of the hydrogen concentration of the feedstock and liquid endproducts of hydrocarbon crackers is a must for the computer controlled optimization of the cracking parameters.

Therefore there is a demand for a fast and accurate hydrogen determination, both applicable for all kinds of feedstocks and high boiling cracking products.

At present the C/H ratio in the naphtha boiling range is sometimes determined gaschromatographycally by identification and quantification of each component.

Due to the vast amount of components, this time consuming method can only be carried out by skilled operators.

Another important limitation of the gaschromatographic method is the boiling range of the sample: higher boiling hydrocarbon mixtures like gasoil and crude oil cannot be analyzed at all by this method.

For these reasons investigations have been started to look for fast and accurate methods useful for all kinds of products.

The classical method by combustion and weighing the evolved H_2O and CO_2 is not accurate enough and requires a lot of operator control. The replacement of the weighing procedure by a gaschromatographic determination of the generated H_2O and CO_2 has a lot of advances, but the instrumentation seems to demand much maintenance.

In our laboratory a lot of experiments were carried out on a BRUKER Minispec p 20 i instrument and, it turned out that, if a few precautions (like stabilization of the sample temperature and the use of a standard with each measurement) are taken, a minipulsed NMR is accurate and reproducible enough for the determination of the hydrogen content of all kinds of hydrocarbon mixtures.

The only restriction of this method is that mixtures containing a high amount of low boiling components cause a pressure build up in the sample tube and cannot be measured on the instrument as such. (The instrument operates at 35°C).

II. Principle of operation

The Pulsed NMR technique is based on the fact that in a magnetic field nuclei possessing a magnetic moment like ^{1}H, ^{13}C, ^{19}F, build up a macroscopic magnetic moment parallel to that field.

The magnitude of this moment depends on the concentration of the nuclei, the magnitude of the magnetic field and the temperature.

A radio frequency RF transmitter, appropriate to generate short pulses, is located perpendicular to the magnetic field. The frequency of the RF puls is equal to the socalled Lamor frequency of the nuclei. The Lamor frequency depends on the magnitude of the magnetic field and the magnetic properties of the nuclei of interest.

A short RF puls (several micro seconds) generates a 90° distortion of the magnetic moment. After this

distortion the moment induces a decaying signal in a receiver coil. The exponential decay of this signal is caused by the socalled transversal relaxation (characterized by a time constant T_2) and at the same time the macroscopic magnetic moment parallel to the steady magnetic field is restored by the socalled longitudinal relaxation (characterised by a time constant T_1).

For liquid hydrocarbons the time-constants of both mechanisms are equal to or less than 2 seconds. So 10 seconds after a pulse ($5 \times T_1$) the initial situation is almost completely restored.

The initial amplitude of the nuclear signal which follows a 90° pulse is directly proportional to the nuclear spin concentration (independent of the transverse relaxation time). To make the intensity of the signal independent of the longitudinal relaxation the time between consecutive pulses should be at least 5 times the longitudinal relaxation time.

Measurement of this initial value of the signal amplitude under constant experimental conditions (i. e. temperature, field, sample volume) enables a quantitative determination of the nuclear spin concentration (e. g. hydrogen).

III. Instrumental parameters

To improve the signal to noise ratio the instrument is equipped with an averager (a box integrator), which makes repeated pulsing and measuring possible. After a preset number of pulses the averaged signal is automatically displayed. In our experiments we have used a sequence of 10 pulses with a pulse repetition time of 10 seconds, while the signal was measured 70 µs after each pulse.

IV. Operating conditions

Our experiments pointed out that to be able to get the previously mentioned accuracy the following precautions should be taken:

a) Pure hexane should be measured in the 10 mm sample tubes used, to check if they all have the same inner diameter.

b) The liquid height in the tube should be the same in all cases (70 ± 2 mm).

c) The sample must be stored in a thermostated water bath at 37°C for about 15 min and after insertion in the apparatus be allowed toe stabilize for another 5 min, before starting the actual measuring sequence.

The average value of two consecutive measuring sequences is reported.

d) To control both long term and short term instability a pure hexane standard is measured before each sample measurement; both measurements are done twice.

Keeping these precautions in mind the following measuring sequence is proposed:

1. Hexane standard
2. Sample
3. Hexane standard
4. Sample

e) The hydrogencontent is calculated using the following equation:

grams hydrogen per 100 ml

$$= 10.81 \frac{b}{a}$$

in which (b) is the average reading of the two sample measurements and (a) the reading of the two hexane measurements. The factor 10.81 is based on the specific gravity of hexane at 15°C with respect to the specific gravity of water at 15°C (= 0.664).

The specific gravity of the samples has to be known at the same temperature (s. g. $\frac{15}{15}$).

Though the measurement is carried out at 37°C no extra correction has to be made, because the expansion coëfficient for the concerning hydrocarbons is about the same.

V. The relaxation time and the signal amplitude

The relaxation time of the various kinds of hydrocarbons is a very important parameter.

This parameter determines whether or not the applied pulse repetition time is long enough. This is expressed by the following equation:

$$A = 1 - \exp(-\tau/T_1)$$

A = signal amplitude after a sufficient number of pulses

τ = pulse repetition time

T_1 = relaxation time

Table 1 lists the longitudinal relaxation times of several plant streams and pure compounds as determined in our laboratory. This table also gives the relative amplitude of the signals for the various products. It appears that for the greater part of the products the maximum deviation from the maximum possible amplitude is less than 0.5%.

Table 1 The relaxation time and the relative signal amplitude

Sample	Relax. time T_1 (sec)	Rel. signal (A) *) %
Hexane	1.5	99.87
Isooctane	1.1	99.99
cyclohexane	1.5	99.87
benzene	2.1	99.15
ethylbenzene	2.2	98.94
styrene	1.9	99.48
naphtha	1.5	99.87
gasoil	0.6	> 99.99
A	1.8	99.61
B	≤ 0.2	> 99.99
C	1.5	99.87

A: cracking product containing monocyclic, polysubstituted aromatics.
B: cracking product containing polycyclic aromatics.
C: dicyclopentadiene concentrate.

*) pulse rep. time 10 sec.

VI. The accuracy of the method

A lot of experiments were carried out to get an idea of the accuracy, the linearity and the reproducibility of this method.

VI. 1. The linearity

The hydrogen concentration of some diluted solutions in carbontetrachloride was measured and compared with the calculated values (see table 2). The results of the measurements indeed showed an ideal linear relationship (lin. corr. coëff. = 0.99998; recovery 100.7 %).

VI. 2. The reproducibility

The hydrogen concentration of pure isooctane was determined 10 times devided over two different days (see table 3). A relative standard deviation of 0.45 % was found and the recovery was 100.5 % of the calculated value.

VI. 3. The accuracy for different types of hydrocarbons

The found hydrogen concentration for different types of hydrocarbons (aromatic, isoparaffinic, cyclic and unsaturated) proves the applicability of the method for all those hydrocarbons (see table 4).

VII. The determination of the hydrogen content of naphtha feedstocks

The hydrogen concentration of 11 naphtha samples was determined both by pulsed NMR and gaschromatography. An average recovery of 99.6 % was found and the relative standard deviation for the pulsed NMR observations with respect to the GC figures was 0.5 % (see table 5).

Table 2 The hydrogen content of hexane solutions in carbontetrachloride

Hexane concentration grs/100 ml	Hydrogen content (grs/100 ml)	
	Actual	found
49.91	8.12	8.17
30.05	4.89	4.93
15.62	2.54	2.55
5.54	0.90	0.87
0	0	0.02

Recovery = 100.7 %
Linear correlation coëff. = 0.99998

Table 3 The reproducibility for isooctane

Display		Hydrogen conc. (grs/100 ml)
Isooctane	Hexane	
78.9	77.4	10.96
78.6	76.3	11.07
78.6	77.4	10.92
78.8	77.3	10.96
78.9	77.4	10.96
78.8	77.0	11.00
81.3	79.6	10.98
81.6	80.1	10.95
81.5	79.4	11.03
81.3	80.2	10.90
	Average:	10.97
	Std dev:	0.05 absolute
		0.45 % relative

The calculated hydrogen concentration was 10.92 grs/100 ml, so the overall recovery equals 100.5 %.

Table 4 The hydrogen concentration of pure compounds

Sample	Hydrogen content		% Recovery
	Actual	Found	
Benzene	6.76	6.71	99.3
Ethylbenzene	8.18	8.24	100.5
Styrene	6.97	7.02	100.7
Cyclohexane	11.12	11.19	100.6
Isooctane	10.92	10.97	100.5

Table 6 Naphtha feedstock

Sample	s. g. 15/15	Hydrogen concentration (grs/100 ml)			C/H ratio [1])	
		NMR	G. C. [2])	[3])	NMR	G. C.[2])
1	0.7156	10.89	10.89	0	5.57	5.57
		10.85		0.04	5.60	
2	0.6888	10.72	10.71	−0.01	5.43	5.43
		10.73		−0.02	5.42	
3	0.711	10.78	10.93	0.15	5.60	5.50
		10.84		0.09	5.56	
4	0.712	10.82	10.81	−0.01	5.58	5.59
		10.82		−0.01	5.58	
5	0.710	10.77	10.81	0.04	5.59	5.57
		10.75		0.06	5.61	
6	0.710	10.73	10.87	0.14	5.62	5.53
		10.81		0.06	5.57	
7	0.707	10.77	10.86	0.09	5.57	5.51
		10.75		0.11	5.57	
8	0.740	10.21	10.25	0.04	6.23	6.22
		10.23		0.02	6.24	
9	0.7003	10.76	10.79	0.03	5.51	5.49
		10.74		0.05	5.52	
10	0.7114	10.78	10.84	0.06	5.60	5.56
		10.76		0.08	5.61	
11	0.7227	10.94	10.88	−0.06	5.61	5.64
		10.94		−0.06	5.61	

[1]) Weight C/H ratio.
[2]) Hydrogenconcentration and C/H ratio of fully identified gaschromatograms.
[3]) Difference between the hydrogen content by pulsed NMR and gaschromatography.



Pulsed NMR for the Fast and Simple Determination of the Hydrogen Content of Hydrocarbons

by Dr. JOOST A. B. LOHMAN, Bruker Spectrospin N. V., P. O. Box 88, 1530 AB WORMER, The Netherlands
and Dr. DEREK CLAGUE, Koninklijke Shell Laboratorium, P. O. Box 3003, 1003 AA AMSTERDAM, The Netherlands

1. Introduction

The combustion characteristics of jet fuels and related hydro-carbon mixtures may be related to such parameters as smoke point, aromatic content, or hydrogen content. Of these the hydrogen content is being accepted as a sole and reliable quality parameter. Consequently, there is a need for simple and quick methods to determine this parameter.

De Pooter (1) described an accurate method for the determination of the hydrogen weight per volume in cracked products, using the BRUKER minispec p 20 i pulsed NMR spectrometer. Its method has now been applied routinely for a number of years to full satisfaction.

Here we describe experiments to determine the hydrogen weight percentage in comparable compounds with the newly developed minispec pc 20. This microprocessor controlled apparatus is characterized by high temperature stability and by large flexibility. A completely free choice of pulse and sampling sequences and of data evaluation is offered by exchangeable PROMs for different experiments. The object of this report is to **compare two methods for the determination of the hydrogen content** i. e. measurement of the **NMR signal of a fixed volume versus a fixed weight of sample.**

In the first method the fixed volume is obtained by filling the sample tubes to a point well above the RF coil. In this way an effective volume is measured that, although it is not known, is always the same. In the second method the whole sample has to be measured with the same sensitivity. So, it has to be placed completely within the coil. Consequently, filling the tube is more critical in this experiment.

2. Experimental

Unless otherwise quoted, all experiments have been performed under the following conditions. The temperature was kept at 41.6°C and the samples were thermostatted for at least 30 min. in an aluminum block and 5 min. inside the magnetbox before the measurement. The magnetization was measured 60 µs after a 90° pulse by diode detection of the signal. Time averaging was done of 25 readings. The time interval between

Table 1

Mixtures of Cyclohexane and Tetra			
Volume % Cyclohexane	Signal	Calculated Signal *	Residual
100.00	1811	1806	+ 5
66.04	1185	1190	− 5
44.67	794	802	− 8
28.12	514	502	+ 12
16.27	280	287	− 7
6.34	110	107	+ 3

* From linear regression parameters of experimental values:
Slope 18.15 · Intercept −8.5 · Coefficient of determination 0.9996

Table 2

Attenuator linearity test				
Attenuator setting	Relative sensitivity	Signal	Calculated signal *	Residual
a) Oil sample 1				
63 dB	1.00	328	328	0
60	1.41	470	470	0
57	2.00	668	670	− 2
54	2.83	956	954	+ 2
51	4.00	1355	1355	0
48	5.66	1921	1922	− 1
b) Oil sample 1; reduced pulsewidth				
48	1.00	459	453	+ 6
45	1.41	637	643	− 6
42	2.00	912	913	− 1
39	2.83	1293	1295	− 2
36	4.00	1836	1834	+ 2
c) Oil sample 2; reduced pulsewidth				
36	1.00	448	445	+ 3
33	1.41	687	693	− 6
30	2.00	1047	1044	+ 3
27	2.83	1541	1541	0
	a)	b)	c)	
Slope	342.2	460.4	599.7	
Intercept	− 14.2	− 7.7	− 155.1	
Coefficient of determination	1.0000	0.9999	0.9999	

* From linear regression parameters of experimental values

the successive pulses was 16 s to insure a signal recovery of better than 99.9 % (1).

2.1 Linearity

In the experiments described the signal of a sample is related to that of a reference of known hydrogen content. In this connection it is important that the response of the detection system is highly linear. In table 1 the responses have been compiled of some mixtures of cyclohexane with tetrachloromethane. The calculated values, obtained from a least squares fit of the experimental data to a straight line, have also been given. From the residuals we conclude that the linearity is within 0.67 % of the full scale signal. We also tested the accuracy of the attenuator setting. The results are in table 2. The attenuator linearity is seen to be better than 0.35 % of the full scale signal and thus, signals that are measured at different attenuator settings can be related to one another. The linearity test is graphically illustrated in figure 1.

2.2 Stability

Instrumental instabilities may cause errors in the experimentally obtained hydrogen contents. This problem may be overcome by measuring the reference shortly before and after the unknown sample (1). This is, however, not necessary with the pc 20 instrument. Its high stability is illustrated in figure 2. In the upper curve the temperature is plotted. The influence of a forced jump in the room temperature of nearly 4°C is invisible. The 95 % confidence interval (plus or minus two times the standard deviation of the mean signal) is ±0.25%.

In table 3 the readings are recorded of five samples of the same compound. They have been measured on different days and each sample has been freshly prepared. It is seen that **there is no need to measure the reference more than, say, once a day.**

Table 3

Reproducibility test						
Sample	Date	Successive signals (every hour)				
1	12–3–80	1720	1721	1719	1719	1719
2	13–3–80	1718	1720	1718	1718	1719
3	14–3–80	1717	1718	1717	1719	1721
4	17–3–80	1719	1719	1721	1718	1719
5	18–3–80	1718	1718	1717	1718	1717

2.3 Filling height

The tests described so far have all been performed in a 15 mm long RF coil. The 10 mm sample tubes were filled to at least 10 cm. Thus, the effectively measured volume is completely determined by the spatial distribution of the exciting RF field and does not depend on the exact filling height. This means that the experiment is extremely simple to conduct but in order to determine the hydrogen weight percentage one has to know the densities of the samples.

Alternatively one may determine the signal of a fixed weight of sample. For this method to yield reliable results it is important that the response is homogeneous over the full sample volume to insure that the signal per weight is not influenced by small differences in filling height. For this purpose a 60 mm long RF coil has been developed to which the RF signal is fed in the middle, insuring the highest possible RF homogeneity.

We recorded the signal of a sample of 5 mm filling height, moving it stepwise through the coil. The result (in figure 3) shows an RF homogeneity of 1.6 % over 28 mm. We note that the steep drops at the sides are caused by the inhomogeneity of the static magnetic field rather than by a decreasing RF intensity towards the ends of the coil. We conclude that with this coil the signal per weight may be determined unambiguously with filling heights of 20 ± 10 mm, the error introduced by inhomogeneities being less than 0.4 %.

2.4 Hydrogen content determinations

In table 4 we reproduce the results of the hydrogen content measurements. In the first half the parameters of the signal per volume experiment are given. The signal have been recorded from 10 mm sample tubes filled to at least 10 cm and in an RF coil of 15 mm length. An important point is that the sample tubes must be of high accuracy in order to insure that the measured volumes are exactly the same. We used NMR precision tubes (Wilmad) showing differences in the signals of samples of the same compound which were less than 0.05 %.

A parameter needed in the signal per volume measurement is the density. The densities in table 4 have all been corrected for the temperature. It is not sufficient just to take the densities for the reference and the unknown sample at the same temperature (1) e. g. 15°C. The small errors introduced by this approach exceed the experimental uncertainties. Thus, it is necessary to calculate the densities at the actual measuring temperature.

In the second half of table 4 are the data from the signal per weight experi-

Table 4

^1H content determination of Hydrocarbons											
	Signal per volume						Signal per weight				
Compound	% ^1H (calc.)	$d^{41.6}$	Signal	Signal/d	% ^1H*	δ	Weight	Signal	Signal / Weight	% ^1H	δ
n-hexane	16.37	0.6412	1761	2746.4	reference		0.846	1358	1605	reference	
cyclohexane	14.37	0.7630	1831	2399.7	14.30	– 0.07	0.986	1402	1422	14.50	+ 0.13
iso-octane	15.88	0.6749	1804	2673.0	15.93	+ 0.05	1.037	1624	1566	15.97	+ 0.09
cyclo-octane	14.37	0.8208	1963	2391.6	14.26	– 0.11	1.028	1456	1416	14.44	+ 0.07
cis-1,2-dimethyl-cyclohexane	14.37	0.7812	1873	2397.6	14.29	– 0.08	1.082	1525	1409	14.37	0.00
t-butylbenzene	10.51	0.8529	1500	1758.7	10.48	– 0.03	1.195	1253	1040	10.61	+ 0.10
dodecane	15.39	0.7321	1890	2581.6	15.39	0.00	1.126	1714	1522	15.52	+ 0.13
tridecane	15.31	0.7402	1900	2566.9	15.30	– 0.01	1.059	1596	1507	15.37	+ 0.06
hexadecane	15.13	0.7576	1923	2583.3	15.13	0.00	1.058	1572	1486	15.16	+ 0.03
fueloil I	12.76	0.8921	1921	2143.3	12.78	+ 0.02	1.838	2312*	1258	12.72	– 0.04
gasoil	13.12	0.8336	1831	2196.5	13.09	– 0.03	1.280	1631	1274	12.88	– 0.24
fueloil II	13.17	0.8811	1931	2191.6	13.06	– 0.11	1.160	1504	1293	13.11	– 0.06
dieseloil	13.34	0.8541	1932	2262.0	13.48	÷ 0.14	1.217	1635	1343	13.58	+ 0.24
kerosene	14.23	0.7788	1838	2360.0	14.07	– 0.14	1.204	1658	1377	13.92	– 0.31

* A signal of 1635 was recorded with 3 dB attenuation

ment. Use of a new homogeneous RF coil makes this method acceptable with respect to the balance between ease of execution and reliability of the experiment. The filling height is not very critical and the technique is not much more difficult than in the fixed volume setup. The determination of the weight of the sample, however, is an extra experimental step and an additional source of errors.

For both experiments the difference between the experimental and the true values are included in table 4. The true values (column 2) have been calculated from the molecular formulae for the pure compounds. For the oil samples an elemental analysis was performed to determine the hydrogen content. It is seen that the weight percentage of hydrogen may be determined to equal to or better than 1 % relative by the pulsed NMR method.

3. Concluding remarks

In this report experiments are described confirming that pulsed NMR can be applied successfully to the determination of hydrogen concentrations in hydrocarbons. Two experimental approaches are considered. In the first a fixed volume of sample is measured, in the second a fixed weight. The two methods lead to results of comparable high accuracy, albeit that the errors in the signal per weight method are slightly larger than in the other case. We conclude that for a fast and simple method to determine the hydrogen content of hydrocarbon mixtures the signal per volume method should be preferred when the density is known. With a little more effort the signal per weight technique will yield comparable results.

The hydrocarbon mixtures chosen were conventional oil fractions which covered a wide range of viscosities, from the highly mobile aviation fuel through diesel oil to viscous fuel oils. The results obtained for each case indicate that the pulsed NMR method is uniformly applicable and satisfactory over the whole range of viscosities. This versatility is an attractive feature of the pc 20. Hydrocarbon types with higher viscosities such as bitumens and asphalts may also be studied but tend to give rise to sample handling difficulties. The procedures to be used in such cases will be the subject of further investigation.

The high stability of the pc 20 removes the necessity of measuring the reference before and after each sample. The microprocessor features of the instrument open the possibility that, after the reference has been measured and its parameters stored, the hydrogen content of the samples is displayed directly.

Reference:

(1) M. de Pooter, Bruker Report 1/2, 13 (1977).

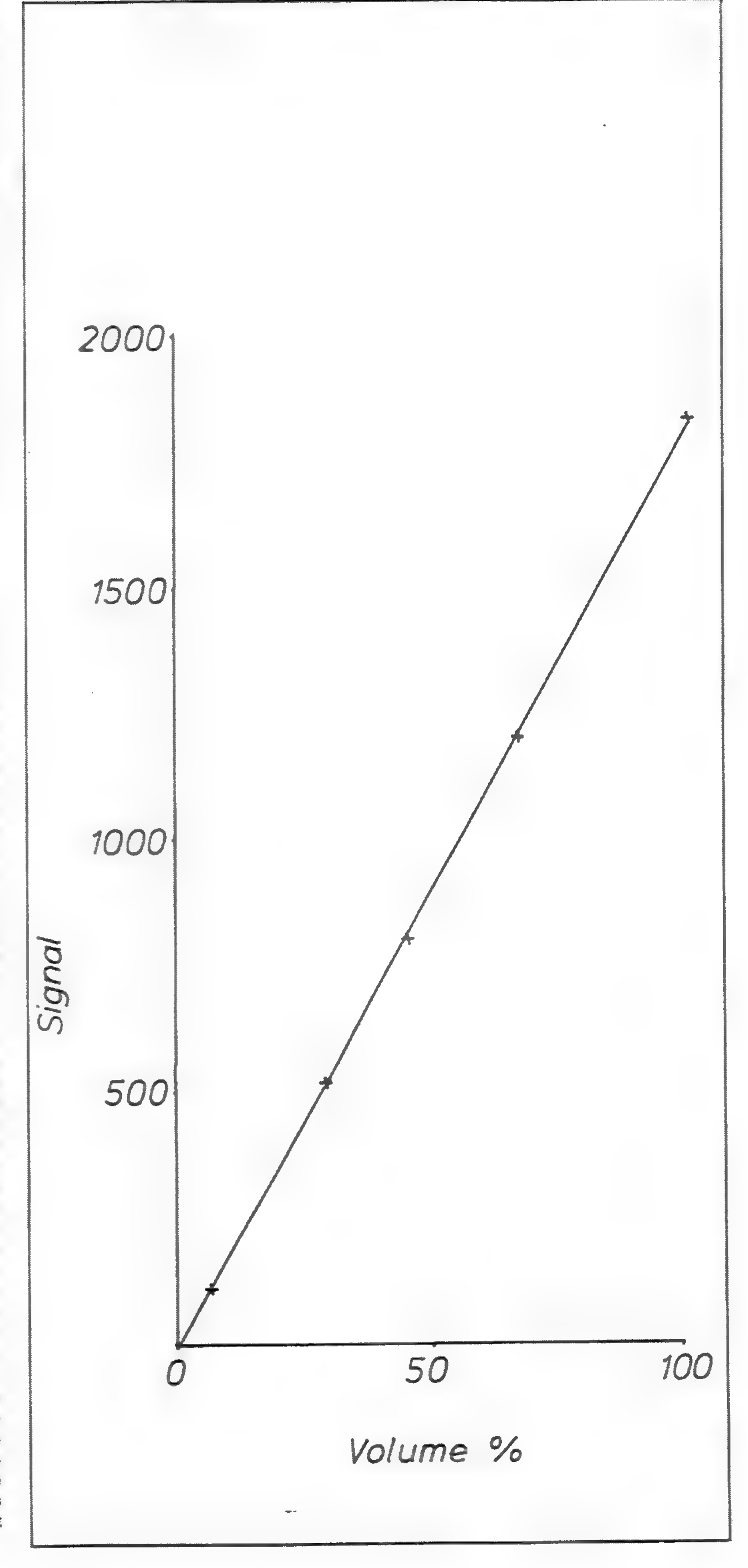


Figure 1
Mixtures of Cyclohexane and Tetra; Signal versus volume percentage cyclohexane.

26
24
22
Temperature °C
2 4 6 8 10 12 1
Time (hrs)
—— mean
------ ±2 σ
1626
1622
Signal

Figure 2
Long term stability test;
Upper trace: Temperature, Lower trace;
Signal versus time. In the lower trace
the mean signal and the 95%
confidence interval have been indicated.

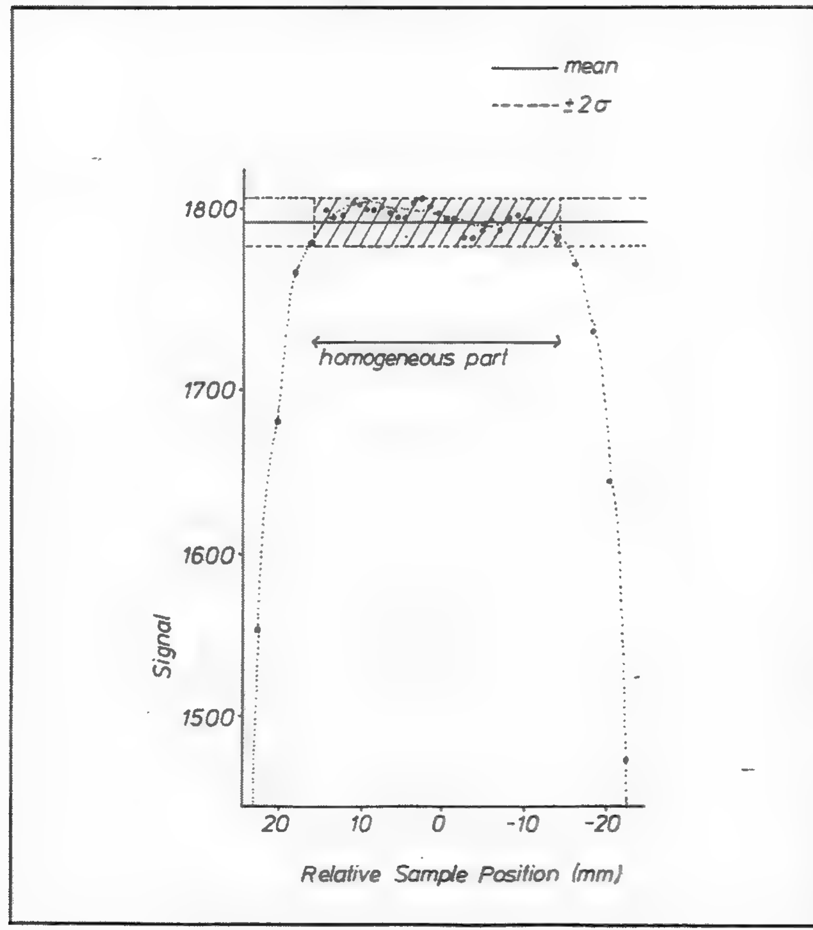
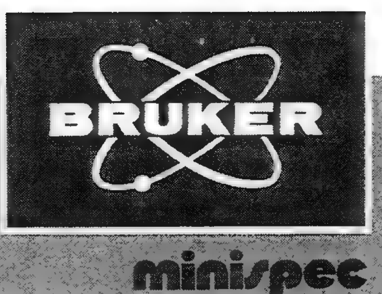


Figure 3
Homogeneity of response;
Signal versus sample position in the
RF coil. The mean signal and the 95%
confidence interval over the
homogeneous part have been indicated.



minispec application note 13

The Use of Pulsed NMR to Measure the Rate of Polymerization of Styrene

Dr. S. A. Jones, BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West-Germany

Introduction

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy has, in the comparatively short time since it was first used, rapidly developed into one of the most powerful analytical tools available today. It has found application in almost all fields of modern science from solid state physics to biochemistry and medicine and is now used in research laboratories, both in industry and universities, throughout the world.

The majority of NMR spectrometers are complex pieces of equipment which require highly trained operators both to obtain and interpret the results. However, in recent years a highly-automated and compact spectrometer has been developed which is suitable for use by operators with only a minimum of training and which is even, in many cases, adaptable for on-line applications. This spectrometer is the BRUKER minispec pc 20. It utilises the principles of "pulsed" NMR and, like its predecessor the minispec p 20 i, it has found widespread application in a variety of industrial and research establishments both in routine quality-control and more sophisticated uses. The instrument is controlled by a microprocessor and many calculations can be performed automatically. The microprocessor also enables signal averaging to be performed, which improves the accuracy of the results. The pulse program generator is freely programmable so that any pulse sequence can be entered and executed. To date the most common applications of the minispec have been in the food industry although it has also been used in the chemical industry and in medical applications. Amongst the measurements which have been carried out are the following:

- ☐ measurement of the solid content of partially crystallised fats
- ☐ determination of oil or fat in a variety of foodstuffs e.g. chocolate, oil-bearing seeds
- ☐ determination of water in various products
- ☐ measurement of the hydrogen content of hydrocarbons
- ☐ measurement of relaxation times in tissues
- ☐ determination of oil and water in emulsions

This report is intended to illustrate the use of the minispec in a new application area viz. the study of polymeric materials. The importance of polymers, large macromolecules formed by the repetitive combination of smaller, simple molecules (monomers), is self-evident. In fact, the development of polymer science has been one of the most important advances of this century – the impact of, for instance, plastics and synthetic fibres has been overwhelming and has greatly reduced man's dependence on naturally occurring materials. Polymers are materials of widely varying physical and chemical properties and it is now possible to a large extent to engineer a product with the appropriate properties for a particular application. It is important to optimize the conditions under which the polymerisation occurs so as to obtain the maximum or most rapid yield of polymer product. It is therefore necessary to measure the rate of polymerization or the percentage conversion of monomer to polymer as a function of time.

This report describes how the free-radical initiated polymerization of styrene can be followed using pulsed NMR. The reaction is an example of free-radical addition polymerization and can be represented by the following scheme:

$I \xrightarrow{k_d} 2R^{\cdot}$		Initiation	
$R^{\cdot} + M \xrightarrow{k_r} M_1^{\cdot}$			
$M_1^{\cdot} + M \xrightarrow{k_p} M_2^{\cdot}$		Propagation (assumed independent of i)	(1)
$M_i^{\cdot} + M \xrightarrow{k_p} M_{i+1}^{\cdot}$			
$M_i^{\cdot} + M_j^{\cdot} \xrightarrow{k_t} M_{i+j}$		Termination	

where I is the initiator and M is the monomer (styrene). It can be shown that the overall rate of polymerization is given by

$$-\frac{d\,[M]}{dt} = k_p \left[\frac{2\,k_i}{k_t}\right]^{1/2} [I]_0^{1/2} \, [M] \qquad (2)$$

The rate is therefore a function of the rate constants for the individual reaction steps as well as of the initial initiator concentration. The most usual method of measuring the rate of polymerisation is by dilatometry. This technique makes use of the fact that the density of the polymer is normally greater than that of the monomer and a volume contraction therefore occurs during the course of the reaction. This method is cheap and fairly easy to carry out but it has certain disadvantages. For instance, a separate dilatometer is required for each experiment which, if a large number of samples are to be measured, proves cumbersome. Also, the densities of both monomer and polymer must be known. Finally the method is not at all suitable for one-line or factory floor use.

Theory

The NMR technique is based on the fact that when a sample is placed between the poles of a magnet the hydrogen nuclei contained within the sample become polarized such that there exists a net magnetization aligned parallel to the field. The magnitude of this magnetization can be measured by applying a second magnetic field at right angles to the first in the form of a radiofrequency field. Modern NMR spectrometers such as the minispec pc 20 make use of the principle of so-called "pulsed" NMR by which this radiofrequency field takes the form of a short burst of high power radiofrequency radiation.

The evolution of the nuclear spin state from the excited state which follows this pulse is then observed. As the sample returns to its original state the excess energy is emitted in the form of a decaying signal called the "Free Induction Decay" or FID.

The initial amplitude of the FID is proportional to the number of hydrogen nuclei in the sample. It decays for two reasons:

1. the inhomogeneity of the magnetic field,
2. exchange of energy amongst the hydrogen nuclei (spin-spin relaxation) which is governed by a time constant T_2.

In order to remove the effect of the first of these it is necessary to use a special pulse sequence. The most commonly used of these is the Carr-Purcell-Meiboom-Gill (CPMG) sequence. This consists of a train of pulses each of which refocusses the decay of the signal due to the magnet inhomogeneity. The signal consists of a series of refocussed signals called "spin-echoes" the maximum amplitude of each of which is slightly less than the preceding one. The decay of the echo amplitudes is due entirely to spin-spin relaxation. For a liquid this is an exponential process and a semi-logarithmic plot of echo amplitude against time is therefore a straight line the slope of which is related to T_2 and the intercept of which on the $t = 0$ axis is proportional to the number of hydrogen nuclei present in the sample (and is identical to the initial amplitude of the FID). Such a case is illustrated in **Figure 1 (a)** for pure styrene. **Figure 1 (b)** shows a similar plot for a partially polymerized sample of styrene. In this case at least three components are present each with its own characteristic T_2. Since it is to be expected that T_2 will decrease as the chain length of the molecular species increases, the final, linear part of the curve (corresponding to the component with the longest T_2) can be identified with the signal due to free styrene. The total signal due to the free styrene can be obtained by extrapolating the linear part of the curve to $t = 0$. The percentage conversion of styrene to polystyrene is then given by

$$\% \text{ Conversion} = \frac{M_0 - M_t}{M_0} \times 100$$

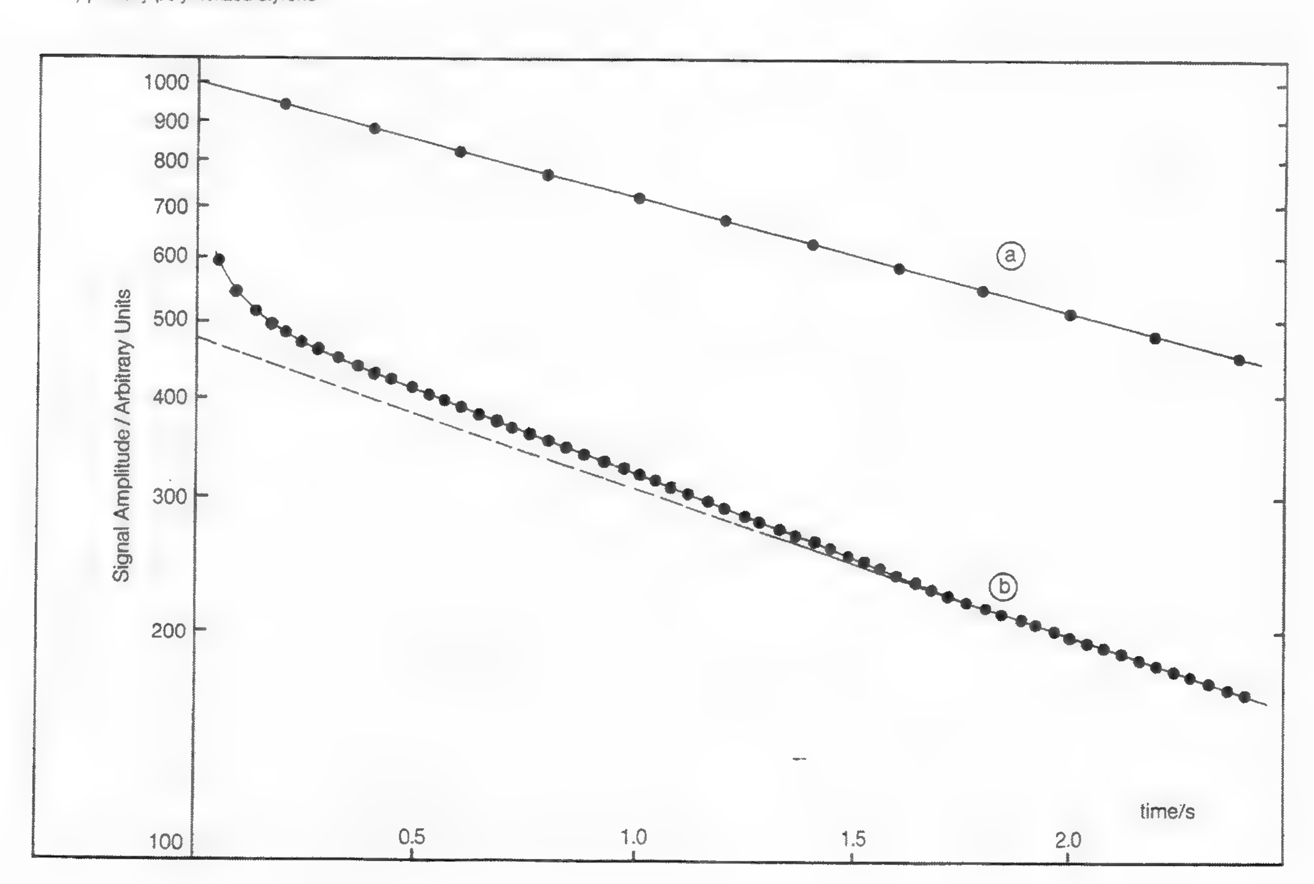
where M_0 = the extrapolated styrene signal before polymerization

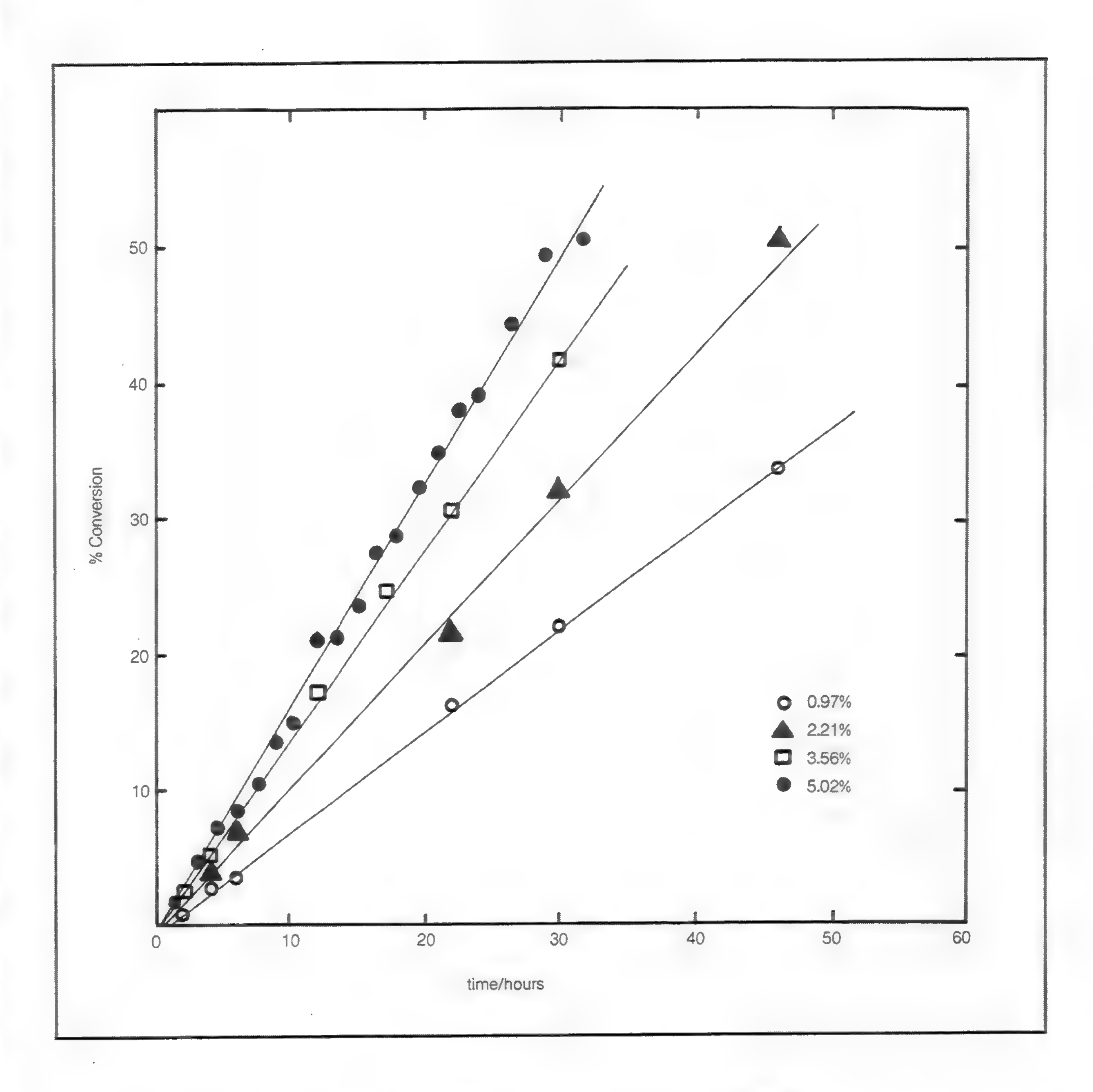
and M_t = the extrapolated styrene signal at time t.

Results

The free-radical initiated polymerization of styrene was followed using the method outlined above. The initiator used was azoisobisisobutyronitrile (AIBN). **Figure 2** shows plots of percentage conversion as given by equation (3) against time at four different concentrations of initiator and a temperature of 40°C. In each case the plot is approximately linear indicating an approximately constant polymerization

Figure 1:
CPMG relaxation decay curves
for a) pure styrene
b) partially polymerized styrene





rate. It can be seen that the rate of reaction expressed as percentage conversion per hour increases with the initiator concentration. In fact the dependence is approximately on the square root of the AIBN concentration, as predicted by equation (2).

The curves in **Figure 2** do not pass through the origin. This is due to the existence of an "induction period" during which the small quantity of inhibitor supplied with the styrene is used up. The induction period becomes smaller as the concentration of AIBN is increased.

Summary

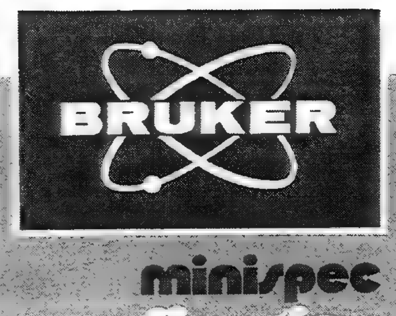
It has been shown that is is possible to follow the rate of polymerization of styrene by pulsed NMR. The measurement involves no weighing or similar steps which may introduce errors and no knowledge of the densities of the various components is required.

Compared with previous applications of the minispec pc 20 this type of measurement is not typical. It involves more extensive data handling and calculation than is usual. However, the instrument has a wide range of interface possibilities and lends itself to further automation which enhances its potential as a process controller. In an automated set-up it should be possible for results to be obtained rapidly and reproducibly by an operator with only a minimum of instruction.

Figure 2:
Plots of percentage conversion of styrene to polystyrene at four different concentrations of initiator and 40°C.

Determination of the Additive Content of Polyamide/Additive Copolymers by Pulsed NMR

Dr. S. A. Jones, BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West-Germany



Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy has, in the comparatively short time since it was first used, rapidly developed into one of the most powerful analytical tools available today. It has found application in almost all fields of modern science from solid state physics to biochemistry and medicine and is now used in research laboratories, both in industry and universities, throughout the world.

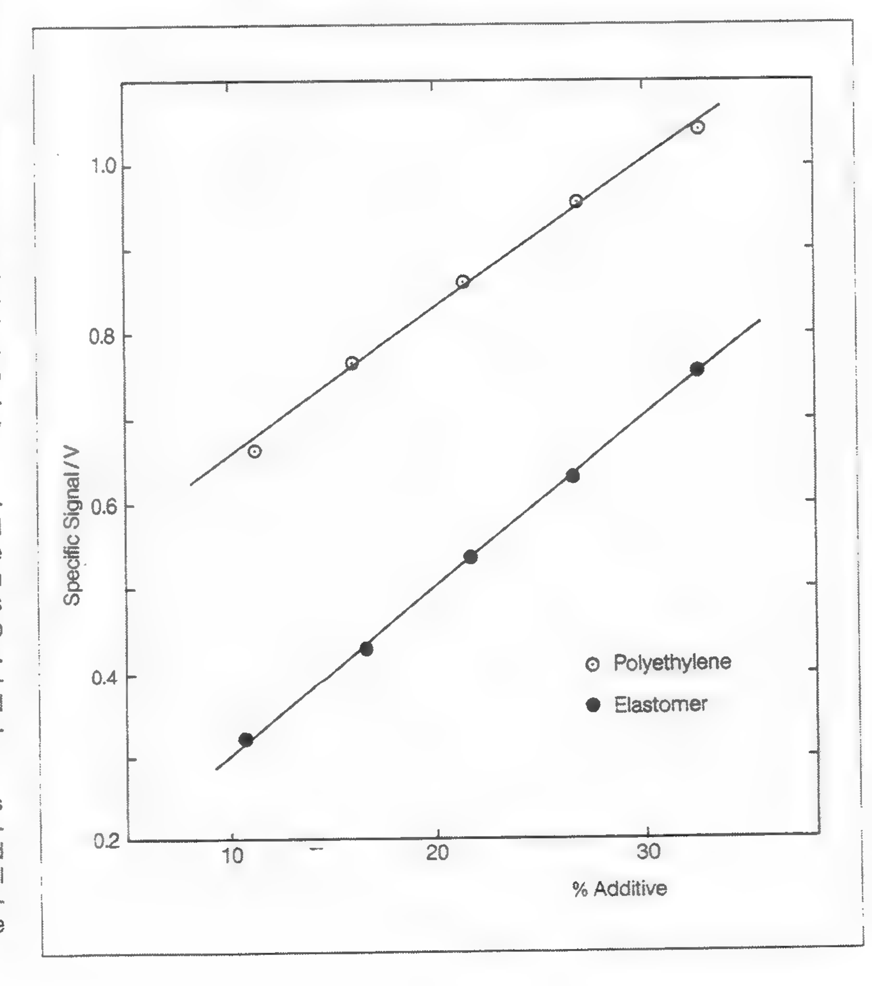
The majority of NMR spectrometers are complex pieces of equipment which require highly trained operators both to obtain and interpret the results. However, in recent years a highly-automated and compact spectrometer has been developed which is suitable for use by operators with only a minimum of training and which is even, in many cases, adaptable for on-line applications. This spectrometer is the BRUKER minispec pc 20. It utilises the principles of "pulsed" NMR and, like its predecessor the minispec p 20 i, it has found widespread application in a variety of industrial and research establishments both in routine quality control and more sophisticated uses. The instrument is controlled by a microprocessor and many calculations can be performed automatically. The microprocessor also enables signal averaging to be performed, which improves the accuaracy of the results.

The principal advantages of the minispec over traditional chemical analytical methods have been found to be the speed and reproducibility with which the results are obtained. Analyses usually take only seconds or minutes to complete and are non-destructive. These features are likely to be of particular usefulness in situations where rapid feedback of results is important, for instance in quality or process control.

To date the most common applications of the minispec have been in the food industry although it has also been used in the chemical industry and in medical applications. Amongst the measurements which have been carried out are the following:

- ☐ measurement of the solid content of partially crystallized fats
- ☐ determination of oil or fat in a variety of foodstuffs, e. g. chocolate, oil-bearing seeds
- ☐ determination of the hydrogen content of hydrocarbons
- ☐ measurement of relaxation times of tissues
- ☐ determination of oil and water in emulsions
- ☐ determination of water in various products

Figure 1
Calibration lines of specific signal against percentage of additive for polyamide/elastomer and polyamide/polyethylene copolymers.



The purpose of this report is to describe a new application of the minispec viz. the determination of the amount of elastomer or polyethylene additive in polyamide/elastomer or polyamide/polyethylene copolymers.

The importance of polymers, large macromolecules formed by the repetitive combination of smaller, simple molecules (monomers), is self-evident. In fact, the development of polymer science has been one of the most important advances of this century. The impact of, for instance, plastics and synthetic fibres has been overwhelming and has greatly reduced man's dependence on naturally occurring materials. Polymers are materials of widely varying physical and chemical properties and it is now possible to a large extent to engineer a product with the appropriate properties for a particular application. One of the most important ways in which this is done is by copolymerising two (or more) monomers. The physical properties of the copolymer often depend critically on the relative proportions of the components. Unfortunately it is often difficult to predict the composition of the end product from the composition of the starting reagents. It is therefore desirable to be able to monitor the product composition in order to optimise the reaction conditions and to maintain uniformity of composition.

Theory

When a sample is placed between the poles of the magnet in an NMR spectrometer the protons (hydrogen nuclei) contained within the sample become polarized such that there exists a net magnetization aligned parallel to the magnetic field. The magnitude of this magnetization can be measured by applying a second magnetic field perpendicular to the first in the form of a pulse of radiofrequency radiation which rotates the magnetization into the plane perpendicular to the field (a "90° pulse"). The magnetization rotates in this plane and induces a signal in the receiver coil of the spectrometer the initial amplitude of which is proportional to the number of hydrogen nuclei in the sample.

If a sample consists of more than one component the signals due to each of these are superimposed. The signal due to each component decays with a characteristic time constant. The method described in this report for the determination of the additive in polyamide copolymers makes use of the fact that the signal due to the additive decays more slowly than that due to the polyamide, which decays to zero in a very short time (approximately 20 µs). The amplitude of the signal at a longer time than this is therefore proportional to the amount of additive present in the sample.

The general procedure followed for the determination of additives in copolymers using the minispec pc 20 as described in this report is as follows:

- ☐ The instrument must be calibrated with at least three samples of known additive content. The percentage additive of each sample must be entered and also the sample weight (either manually or via the instrument's digital balance interface).
- ☐ The signal amplitude for each sample is measured and a calibration line of specific signal (signal per gram) versus percentage additive is calculated by linear regression analysis. The calibration parameters (slope and intercept of the calibration line) are stored in the instrument's microprocessor.
- ☐ To measure the additive content of an unknown sample after calibration only the sample weight needs to be entered; the signal amplitude is measured, the percentage of additive is calculated automatically and the result is displayed.

Results

The signal amplitude 25 µs after a 90° pulse was measured as described in the preceding section for each of two series of polyamide samples containing, in one case, an elastomer and, in the other case, polyethylene in the approximate concentration range 10–30 per cent. For each sample 25 scans were averaged. The interval between scans was only 0.5 s and so the total measuring time per sample was less than 15 seconds.

Figure 1 shows the calibration lines of specific signal against percentage of additive obtained for the two types of copolymer. The linear correlation coefficient is 0.998 in the case of elastomer and 0.995 in the case of polyethylene.

Following calibration each sample was measured against the corresponding calibration line. The results are shown in **Table 1** together with the standard deviations of the NMR results over five separate measurements. In the case of the elastomer the reproducibility can be seen to be very good; the standard deviation is only 0.1 per cent for each sample. For the samples containing polyethylene the reproducibility is slightly worse (standard deviation typically 0.3 per cent) because the signal-to-noise ratio was lower. The reproducibility could be improved by averaging more scans for each measurement.

Conclusions

It has been shown that pulsed NMR is an attractive method for the determination of the additive content of polyamide copolymers. Using the minispec pc 20, measurements can be carried out simply and rapidly. The results are accurate and reproducible. Up to twenty sets of calibration parameters can be stored simultaneously enabling different products to be measured without recalibration. The appropriate calibration line is simply selected from the keypad.

The method described in this report is not restricted to the determination of additive in polyamides. The only requirement is that the signal due to the additive decays at a different rate to that due to the "host" polymer. The method has, for instance, also been used to measure the polybutadiene content of polystyrene/polybutadiene copolymers.

Table 1

a) Polyamide / Elastomer

% Elastomer (given)	% Elastomer (measured)	Standard Deviation
10.7	10.3	0.1
16.7	15.8	0.1
21.8	21.1	0.1
26.6	26.0	0.1
32.4	32.5	0.1

b) Polyamide / Polyethylene

% Polyethylene (given)	% Polyethylene (measured)	Standard Deviation
11.2	10.9	0.2
16.0	16.5	0.3
21.3	22.4	0.3
26.9	27.6	0.3
32.7	32.5	0.3

Determination of the Degree of Polymerisation of a Polymethacrylate by Means of Pulsed NMR

S. A. Jones, BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West Germany
H. J. Stronks, BRUKER SPECTROSPIN (Canada) Ltd., 555 Steeles Ave East, Milton, Ontario, Canada, L9T 1Y6



minispec application note 19

Introduction

The BRUKER minispec pc120 is a small, highly-automated and easy-to-use pulsed NMR spectrometer which is particularly well-suited to routine quality- or process-control analysis in a variety of industries. The instrument is microprocessor-controlled and can be operated by personnel with only minimal instruction.

The principal areas of application of the minispec are the food and chemical industries. Of particular importance in the latter field is the polymer industry. The development of polymers, large macromolecules formed by the repetitive combination of smaller, simpler molecules (monomers), has been one of the most significant and far-reaching aspects of industrial development in this century. Polymers are complex systems, the manufacture of which must be carefully monitored if the finished product is to have the desired properties. Fast methods of analysis which offer rapid feedback of results, such as spectroscopic techniques, are therefore of great utility in the manufacture of polymer materials. Earlier minispec application notes have described the use of the minispec to measure the rate of polymerisation of styrene (number 13) and to monitor the composition of copolymers (number 16). This report describes the use of the minispec to measure the degree of polymerisation of a polymethacrylate.

Method

It is possible to use the minispec to monitor a polymerisation reaction because of the fact that the polymer and monomer have different relaxation times. Relaxation times are important NMR parameters which govern the decay of the NMR signal following an initial pulse of exciting radiation. By using the so-called "spin-echo" technique it is possible to isolate the signal due to the monomer, which is proportional to the amount of monomer present, and hence to follow the course of the reaction.

The general procedure employed when using the minispec for measurements of this kind is as follows:

- ☐ The samples are weighed into sample tubes and thermostatted (in this case at 40°C).
- ☐ The instrument is calibrated with at least three standard samples measured by some other technique; the weight and degree of polymerisation of each sample is entered and the calibration line is calculated by regression analysis. The calibration parameters are stored in the microprocessor.
- ☐ Unknown samples can then be measured against the calibration curve. The sample weight is entered, the instrument is triggered automatically when the sample is inserted and the result is calculated, displayed and, if desired, printed-out.

Instrument Parameters

Probehead:	RTA 13
Program:	EDM 321A
Attenuation:	46
Enhancement:	2
Relaxation Delay:	2 s
Mode:	Diode
Bandwidth:	Low
Duration 01:	1 ms
Duration 02:	1 ms

Results

The calibration graph is shown in **Fig. 1**. The linear correlation coefficient is 0.995, indicating excellent linearity. The samples were then measured against the calibration curve. The total measurement time for the weighed sample was only about 10 seconds. **Table 1** shows a comparison between the given percentage polymerisation values and those measured with the minispec. As can be seen, the agreement is very good.



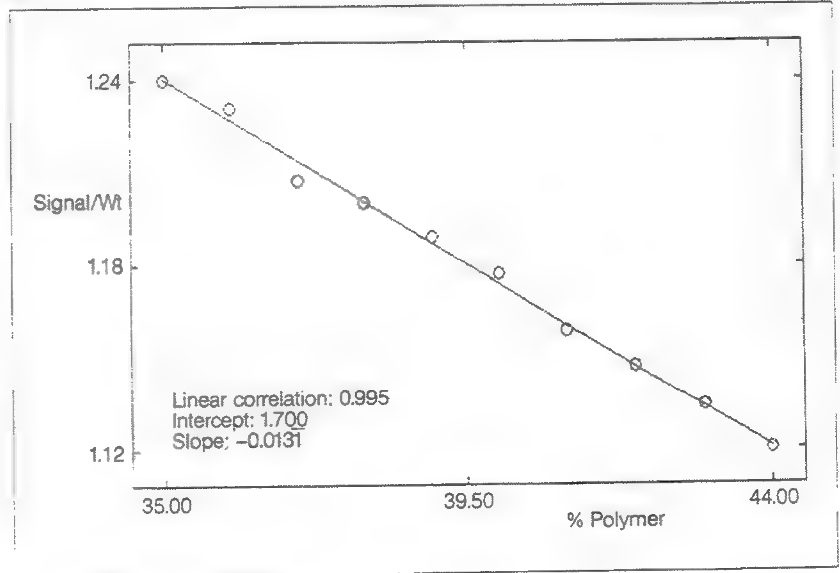
Conclusion

The measurements described in this report show that pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 is an excellent method for monitoring the course of polymerisation reactions. The main advantages of this technique in comparison with conventional methods of analysis are the speed and simplicity with which the results are obtained.

Table 1

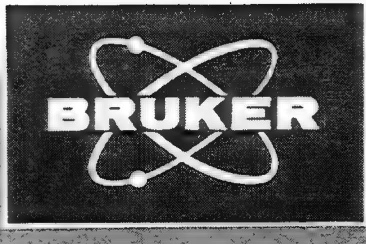
% Polymer (given)	% Polymer (minispec)
35.0	35.0
36.0	35.7
37.0	37.5
38.0	38.0
39.0	38.8
40.0	39.8
41.0	41.2
42.0	42.0
43.0	43.0
44.0	44.0

Fig. 1:



Determination of the Solids Content of Rubber Latex by Means of Pulsed NMR Using the BRUKER minispec pc120

S. A. Jones, BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West Germany
H. J. Stronks, BRUKER SPECTROSPIN (Canada) Ltd., 555 Steeles Ave East, Milton, Ontario, Canada



minispec application note 20

Introduction

The BRUKER minispec pc120 is a small, highly-automated and easy-to-use pulsed NMR spectrometer which is particularly well-suited to routine quality- or process-control analysis in a variety of industries. The instrument is microprocessor-controlled and can be operated by personnel with only minimal instruction.

This report describes the use of the minispec to measure the solids content of a rubber latex. The conventional way of performing this analysis consists of weighing the sample, heating to evaporate all volatile components and re-weighing. The solids content is calculated from the weight loss. This measurement may take as much as several hours. The main advantages of the pulsed NMR method are that no sample weighing is required and that the results are obtained very rapidly (a total measurement time of approximately 10 seconds).

Method

The measurement of the solids content in rubber latex using pulsed NMR is based on the fact that the signals from the solid and liquid components following a pulse of exciting radiofrequency radiation decay at very different rates and that their initial amplitudes are proportional to the amount of each component present. The signal from the solid component decays to zero in a few tens of microseconds while the signal from the liquid part lasts very much longer. By appropriate sampling of the NMR signal it is therefore possible to measure the signal due only to the liquid component and the sum of both liquid and solid signals and hence to calculate the solids content of the sample. However, owing to differences in the hydrogen atom density in the two phases, there is no absolute agreement between the results obtained by NMR and the true values. It is therefore necessary to prepare a calibration curve using known samples.

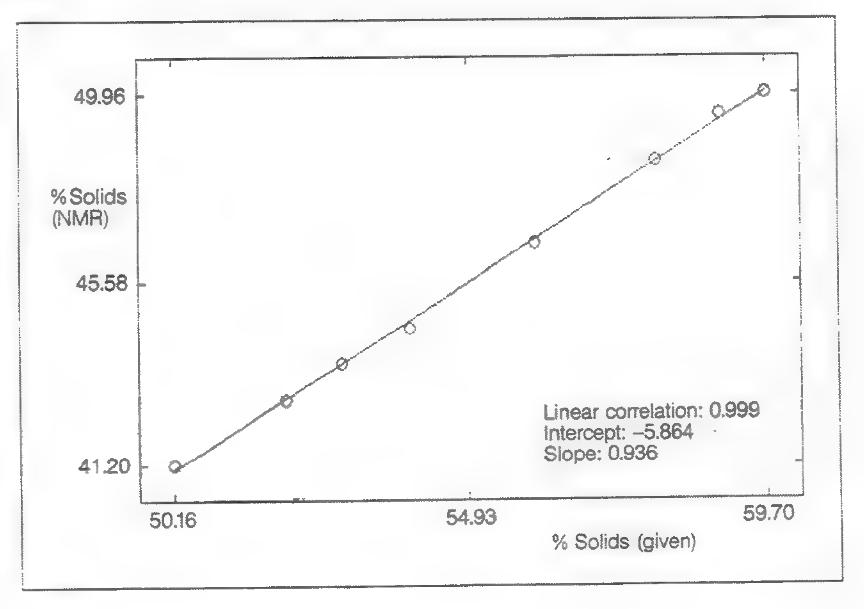
The general procedure employed when using the minispec for measurements of this kinds is as follows:

- ☐ The samples are thermostatted at the measuring temperature (for the measurements described here this was 0°C).
- ☐ The calibration line is prepared by measuring at least three standard samples measured by the conventional technique.
- ☐ Unknown samples can then be measured and the corresponding solids contents read from the calibration curve.

Instrument Parameters

Probehead:	RTS 10	Mode:	Diode
Program:	EDM 110 A	Bandwidth:	Low
Attenuation:	36	Duration 01:	11 µs
Enhancement:	2	Duration 02:	59 µs
Relaxation Delay:	2 s		

Fig. 1:



Results

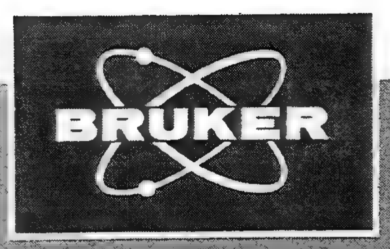
The calibration graph is shown in **Fig. 1.** The excellent linearity of the relationship between the NMR result and the true value is indicated by the linear correlation coefficient of 0.999.

Conclusion

The measurements described in this report show that pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 is an excellent method for determining the solids content of rubber latex. The main advantage of this technique is comparison with the conventional method of analysis lies in the speed and simplicity with which the results are obtained.

Determination of the Viscosity of Oil by Means of Pulsed NMR Using the BRUKER minispec pc120

S. A. Jones
BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West Germany



Introduction

The BRUKER minispec pc120 is a small and easy-to-use analytical instrument based on the principle of pulsed NMR which is particularly suitable for routine quality- or process-control analysis in a variety of industries. The minispec is controlled by a microprocessor which means that operation of the instrument is highly automated. It is suitable for use by personnel with only a minimum of instruction.

This report describes the use of the minispec to measure the viscosity of oils. Conventional methods of performing this analysis are time-consuming and labour-intensive. The pulsed NMR measurement, on the other hand, is very easy to carry out and the results are obtained very rapidly (a total measurement time of approximately 10 seconds).

Method

The measurement of the viscosity of oils using pulsed NMR is based on the fact that an important NMR parameter called the spin-spin relaxation time or T_2 depends very strongly on the viscosity. After calibration with standard samples, therefore, a determination of this quantity provides a simple measurement of viscosity. The spin-spin relaxation time can be quickly measured using a special pulse sequence called the Carr-Purcell sequence. The program which generates this pulse sequence and calculates T_2 is contained in a plug-in module which is simply inserted into the front panel of the minispec.

The general procedure employed when using the minispec for measurements of this kind is as follows:

- ☐ The samples are thermostatted at the measuring temperature (for the measurements described here this was 40°C).
- ☐ A calibration graph is prepared by measuring the spin-spin relaxation times of a series of standard samples which have been measured by the conventional technique.
- ☐ The spin-spin relaxation times of unknown samples can then be measured and the corresponding viscosity read from the calibration curve.

Results

The calibration graph is shown in **Fig. 1.** As can be seen, the spin-spin relaxation time of the oil decreases rapidly at first as the viscosity increases and then more slowly.

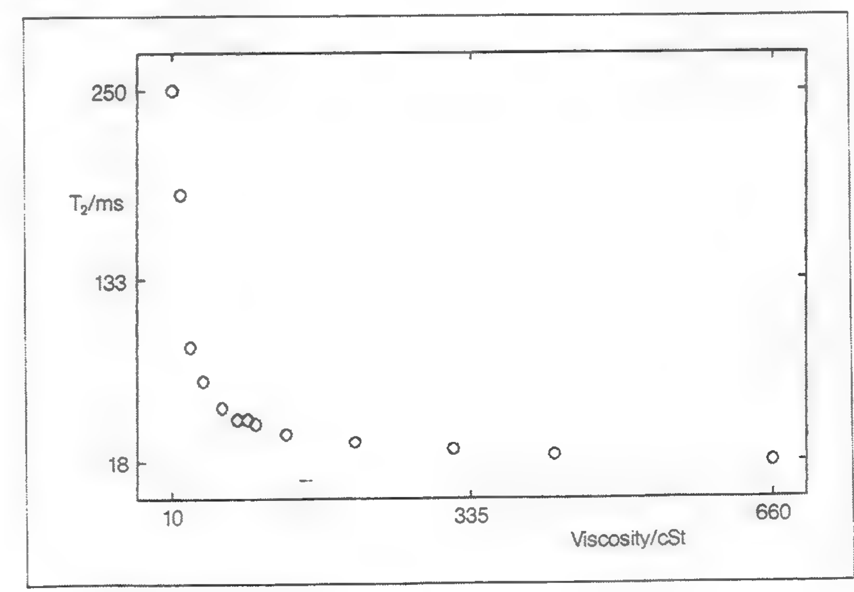
Conclusion

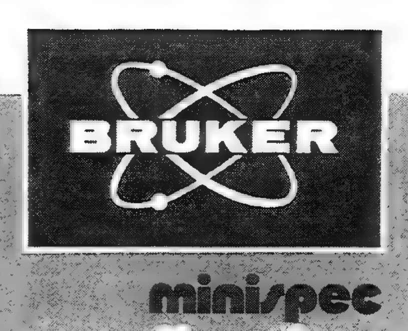
The measurements described in this report show that pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 is an excellent method for routine determinations of the viscosity of oil. The main advantage of this technique in comparison with conventional methods of analysis lies in the speed and simplicity with which the results are obtained.

Instrument Parameters

Probehead:	RTS 10	Mode:	Diode
Program:	EDM 610A	Bandwidth:	Low
Attenuation:	38	Duration 01:	200 µs
Enhancement:	2	Duration 02:	400 µs
Relaxation Delay:	2 s		

Fig. 1:





Determination of the Oil Content of Paraffin by Means of Pulsed NMR Using the BRUKER minispec pc120

S. A. Jones
BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West Germany

minispec application note 22

Introduction

The BRUKER minispec pc120 is a small and easy-to-use analytical instrument based on the principle of pulsed NMR which is particularly suitable for routine quality- or process-control analysis in a variety of industries. The minispec is controlled by a microprocessor which means that operation of the instrument is highly automated. It is suitable for use by personnel with only a minimum of instruction.

This report describes the use of the minispec to measure the oil content of paraffin wax. Conventional methods of performing this analysis are time-consuming and labour-intensive. The pulsed NMR measurement, on the other hand, is very easy to carry out and the results are obtained very rapidly (after thermostatting the sample a total measurement time of approximately 10 seconds).

Method

The measurement of the oil content of paraffin using pulsed NMR is based on the fact that the signals from the solid and liquid components following a pulse of exciting radiofrequency radiation decay at very different rates and that their amplitudes are proportional to the amount of each component present. The signal from the solid component decays to zero in a few tens of microseconds while the signal from the liquid part lasts very much longer. By appropriate sampling of the NMR signal it is therefore possible to measure the signal due only to the liquid component. If the samples are thermostatted at a temperature sufficiently low that the paraffin is solid measurement of the liquid part of the signal enables determination of the oil content.

The general procedure employed when using the minispec for measurements of this kind is as follows:

- ☐ The samples are thermostatted at the measuring temperature (for the measurements described here this was 0°C).
- ☐ The instrument is calibrated with at least three standard samples measured by some other technique; the oil content of each sample is entered and the calibration line is calculated by regression analysis. The calibration parameters are stored in the microprocessor.
- ☐ Unknown samples can then be measured against the calibration curve. The instrument is triggered automatically when the sample is inserted and the result is calculated, displayed and, if desired, printed-out.

Instrument Parameters

Probehead:	RTs 10
Program:	EDM 310 A
Attenuation:	24
Enhancement:	2
Relaxation Delay:	2 s
Mode:	Diode
Bandwidth:	Low
Duration 01:	200 µs

Results

The calibration graph is shown in **Figure 1**. The excellent linearity of the relationship between the NMR signal and the oil content is indicated by the linear correlation coefficient of 0.9995. **Table 1** shows a comparison of the oil content values measured by the standard technique and using the minispec. The agreement is very good.

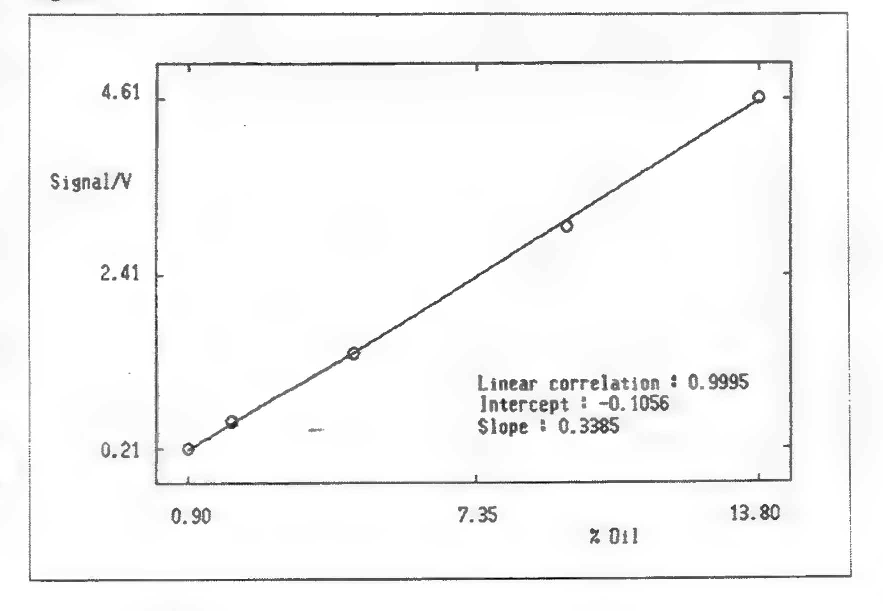
Conclusion

The measurements described in this report show that pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 is an excellent method for routine determinations of the oil content of paraffin. The main advantage of this technique in comparison with conventional methods of analysis lies in the speed and simplicity with which the results are obtained.

Table 1

% Oil (given)	% Oil (NMR)
0.9	0.93
1.9	1.95
4.6	4.59
9.4	9.21
13.8	13.93

Figure 1



Determination of the components in oil/water emulsions by means of pulsed NMR

S. A. Jones
BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH, 7512 Rheinstetten 4, West Germany



Introduction

Nuclear Magnetic Resonance (NMR) spectroscopy has, in the comparatively short time since it was first used, rapidly developed into one of the most powerful analytical tools available today. It has found application in almost all fields of modern science from solid state physics to biochemistry and is now used in research laboratories, both in industry and universities, throughout the world.

The majority of NMR spectrometers are complex pieces of equipment which require highly trained operators both to obtain and interpret the results. However, in recent years a highly automated and compact spectrometer has been developed which is suitable for use by operators with only minimal training and which is even, in many cases, adaptable for on-line applications. This instrument is the BRUKER minispec pc120. The minispec is based on the principle of "pulsed" NMR (which has numerous advantages over the alternative "continuous-wave" version of the technique) and is used mainly for routine quality or process control measurements in the food and chemical industries. The principal advantages of the minispec over traditional chemical methods of analysis have been found to be the speed and ease with which the results are obtained. Analyses usually take only seconds or minutes to complete and are non-destructive.

The range of applications of the minispec can be extended by the use of the minispec data system. This is based on a 16-bit personal computer and allows more sophisticated analysis than is possible using the minispec's own microprocessor. This report describes the use of the minispec with associated data system to determine the components in oil/water emulsions.

The BRUKER minispec pc 120

The minispec pc120 is the latest development in BRUKER's low-resolution NMR instrument line. It is a compact instrument which fits comfortably onto a normal laboratory bench and incorporates a permanent magnet with a field strength of 0.47 Tesla which corresponds to an operating frequency of 20 MHz. The operating frequency of an NMR instrument is important since it is a measure of the sensitivity of the system. Most other low-resolution NMR instruments have considerably lower operating frequencies.

The instrument is microprocessor-controlled which means that calculation can be performed automatically, reducing the scope for user error to a minimum. A particularly important feature of the minispec is the use of so-called Experiment Definition Modules – preprogrammed chips which simply plug into the front panel of the instrument and which contain all the routines necessary for the automatic execution of a given application. The use of these modules eliminates the need for extensive reprogramming of the instrument when the application is changed.

The results are shown automatically on an 8-digit display and if desired printed-out by the built-in thermal printer. The data can also be transmitted to an external computer via a serial interface.

The main difference between the pc100 and earlier models in the minispec range lies in the fact that the electronics and magnet units are separately housed. This permits the operation of more than one magnet from the same electronic console or remote control of a magnet located in a hostile environment.

The minispec data system DSM-16

The minispec data system DSM-16 consists of a 16-bit personal computer interfaced to the minispec. With this system it is possible to analyze and store data accumulated within the minispec. The data is transferred automatically from the spectrometer to the data system via a serial interface. Applications software is available with which this data can be analysed or the user can write his own programs to deal with his own special applications. The system incorporates two floppy disk drives for storage of data and programs.

Method

The determination of the components in an emulsion by pulsed NMR is based on the fact that the oil and water phases have very different spin-spin relaxation times T_2. The relaxation time is an important parameter which governs the decay of the NMR signal produced after initial excitation of the sample by a pulse of radiofrequency radiation. This decay is an exponential process.

The relaxation time of the aqueous phase is much longer than that of the oil phase. The relaxation decay curve of the sample therefore consists of two exponential functions superimposed on each other. The initial amplitude of each of these components is proportional to the number of hydrogen atoms present in the corresponding phase. By a suitable analysis the two components in the signal can be separated and the relative percentages of each present in the sample can be calculated.

In the work described here, the signal was accumulated using the so-called Carr-Purcell-Meiboom-Gill pulse sequence. This consists of a 90° pulse followed by a train of 180° pulses. After every 180° pulse a "spin-echo" is formed. The amplitude of every tenth echo was measured. This method of measuring the relaxation curve has the advantage that distortions due to the inhomogeneity of the magnetic field are eliminated.

Instrument Parameters

Program:	EDM 610 A
Probehead:	RTs 10
Recycle delay:	15 s
Enhancement:	5
Attenuation:	38
Bandwidth:	Low
Detector mode:	Diode
Number of points:	150
Data system program:	T2LOG

Results

Figure 1 shows the relaxation curve (plotted on a semi-logarithmic scale) obtained from an oil-in-water emulsion containing 10% oil by weight.

Curve (a) is the measured curve. Because the relaxation (decay) of the signal is an exponential process, if only a single component is present such a curve is linear. The fact that this is not the case indicates the presence of more than one component in the sample. After a few hundred milliseconds, however, the curve becomes linear. This is because the signals from the components with short relaxation times have decayed to zero and only the component with the longest relaxation time remains and contributes to the signal. This component is due to the aqueous phase. Back-extrapolation of the portion of the curve between 600 ms and 1200 ms by means of linear regression yields the initial amplitude of this component, M0 (a). Subtraction of the calculated line from the total between 0 and 200 ms gives the curve (b) which is due to the oil phase. The fact that this curve is linear indicates that no other components are present. Again, linear regression and extrapolation yields the initial amplitude, M0 (b).

The percentage of oil in the sample in terms of number of hydrogen atoms is given by

$$\%\ \text{Oil} = \frac{\text{M0 (b)}}{\text{M0 (a)} + \text{M0 (b)}} \times 100$$

However, since the hydrogen densities (number of hydrogen atoms per gram) of the two phases are different this percentage is not the same as the percentage by weight. In order to obtain this quantity a calibration graph must be prepared. **Figure 2** shows such a graph obtained by measurements as described above on three samples containing 2%, 5% and 10% oil respectively. The excellent linearity is shown by the correlation coefficient of 0.999.

Conclusion

The results presented here demonstrate that pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 with associated data system is an excellent method for the determination of the components in emulsions. The principal advantages of this technique are its speed and simplicity – no special sample preparation is necessary and the analysis takes only minutes to complete.

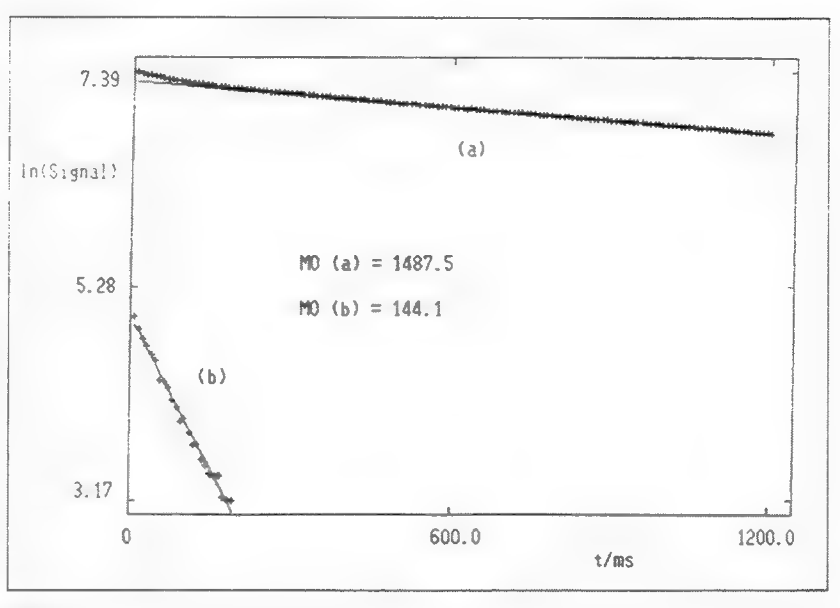


Figure 1
Relaxation curve of an oil-in-water emulsion containing 10% oil. Curve (a) is the measured line, curve (b) was obtained by subtracting the extrapolated component with the longer relaxation time from the total.

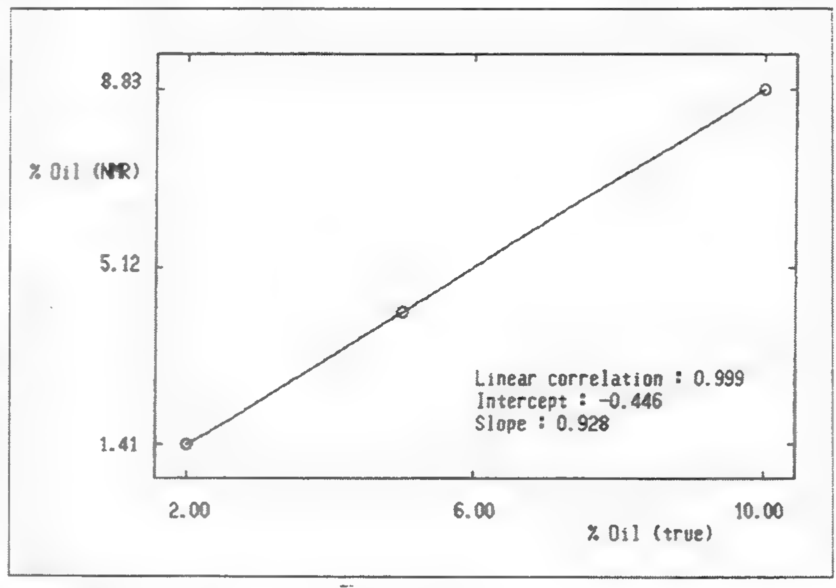
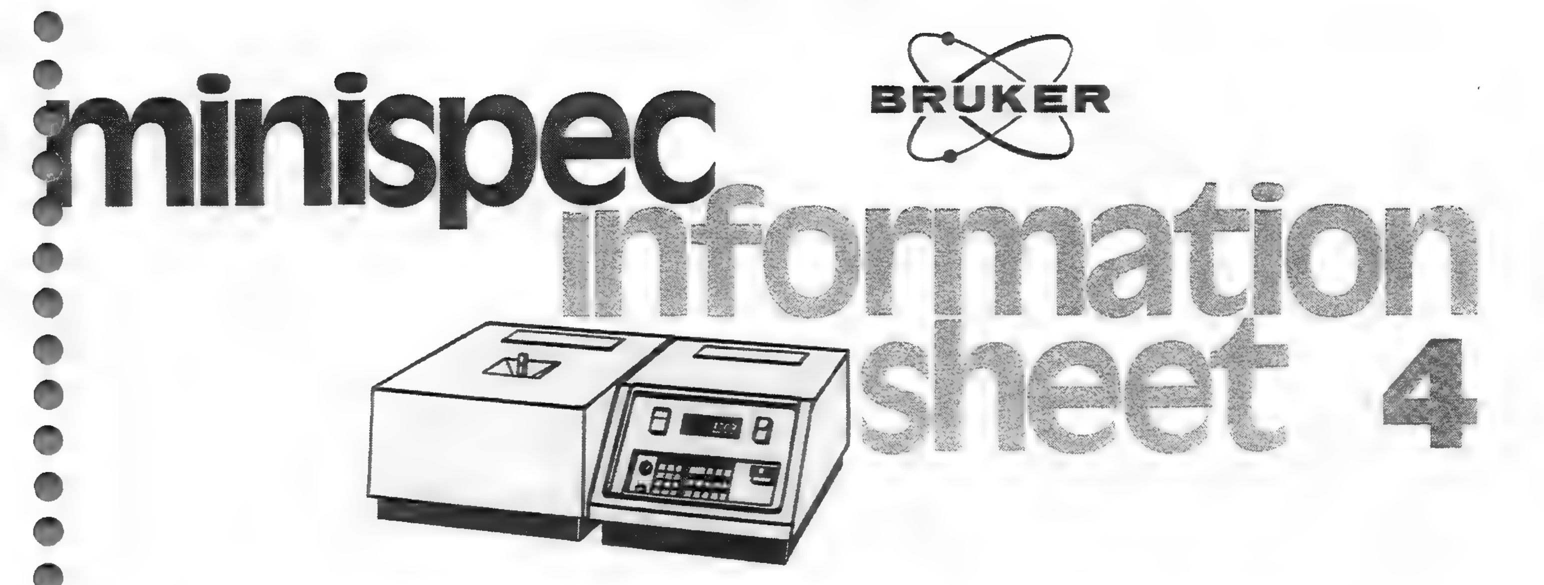


Figure 2
Calibration graph of % oil (NMR) against true % oil by weight.



Determination of the Solid Content of Waste Water

The solid content of sewage is an important parameter which must be carefully monitored to ensure that the effluent complies with legislative pollution standards.

The normal method of determining the solid content of sewage is by measuring the weight loss which occurs on drying. Excess water is first removed and the sample is then weighed, heated at elevated temperature to remove the remaining moisture and re-weighed. The percentage solid content in the original sample is then calculated. The procedure is open to errors in sample weighing, data transcription and mathematical computation. It is also time-consuming, taking several hours per sample.

The use of pulsed NMR to determine the solid content of waste water is a superior alternative to the traditional method of oven drying. The NMR technique is economical, requires much less energy and yields results in seconds. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The timeliness and ease of acquisition of the results enable quick processing decisions to be made.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method-weight loss on drying

- ☐ weigh sample
- ☐ remove excess water
- ☐ weigh sample
- ☐ heat in oven
- ☐ weigh again
- ☐ calculate per cent solid in original sample

pc 20 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

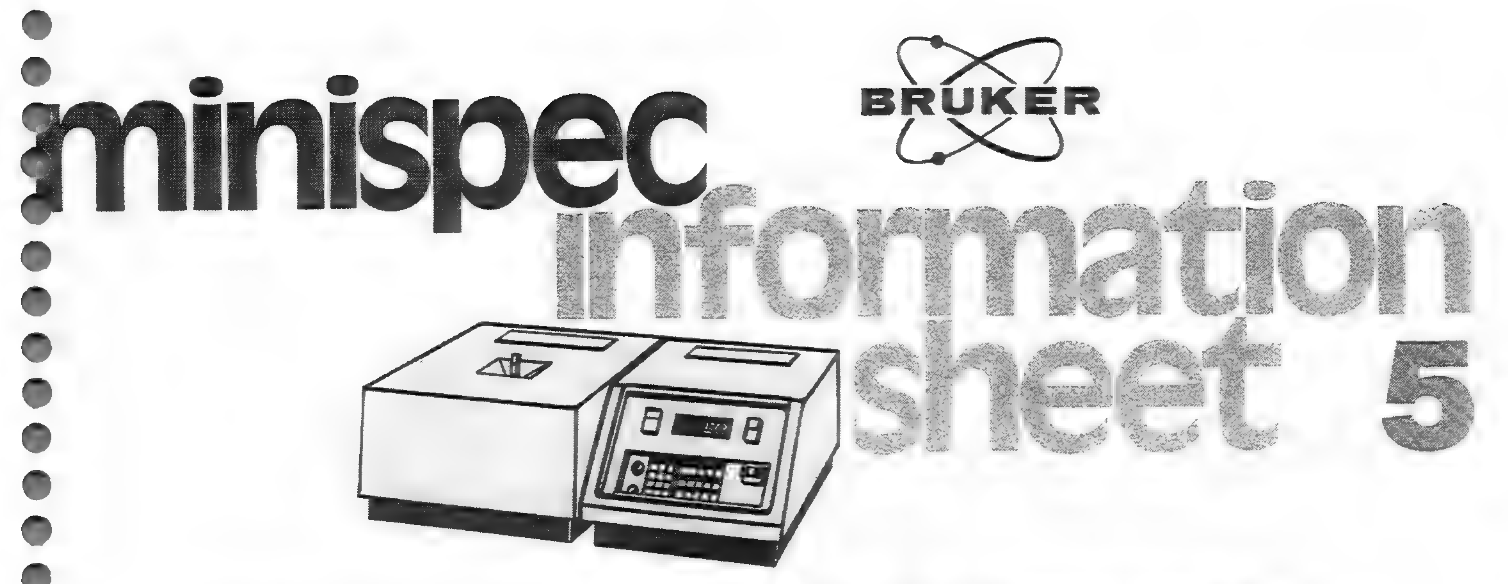
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ per cent solid is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 20 method

- ☐ no weighing is required
- ☐ results are obtained almost immediately
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ automatic hard copy available
- ☐ less energy consumption
- ☐ highly reproducible and accurate

For more information please contact:

BRUKER
ANALYTISCHE MESSTECHNIK
GMBH
Wikingerstrasse 13
D-7500 Karlsruhe 21 (West Germany)
Tel. (0721) 5967-0, Telex 7 825 656 bruk d



The Determination of Moisture in Coal

A rapid method of determining the water content of coal may be of interest to coal mines and large consumers of coal such as power stations.

The determination of moisture in coal by traditional means is done typically by oven-drying. This is a time-consuming process which may take an hour or more. It involves weighing the sample, heating to elevated temperatures to remove all moisture present and re-weighing. The percentage moisture content is calculated from the weight loss. The procedure is open to errors in weighing, data transcription and calculation. The oven-heating will also drive off other volatile components which may be present.

The use of pulsed NMR to determine the moisture content of coal is a superior alternative to the traditional method of oven-drying. The NMR technique is economical, requires much less energy and results are obtained in seconds. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The timeliness and ease of acquisition of the results makes this technique invaluable for immediate in-line testing. The results are repeatable and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – weight loss on drying

- ☐ weigh out samples
- ☐ heat in oven
- ☐ weigh again
- ☐ calculate per cent moisture from weight loss

pc 20 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

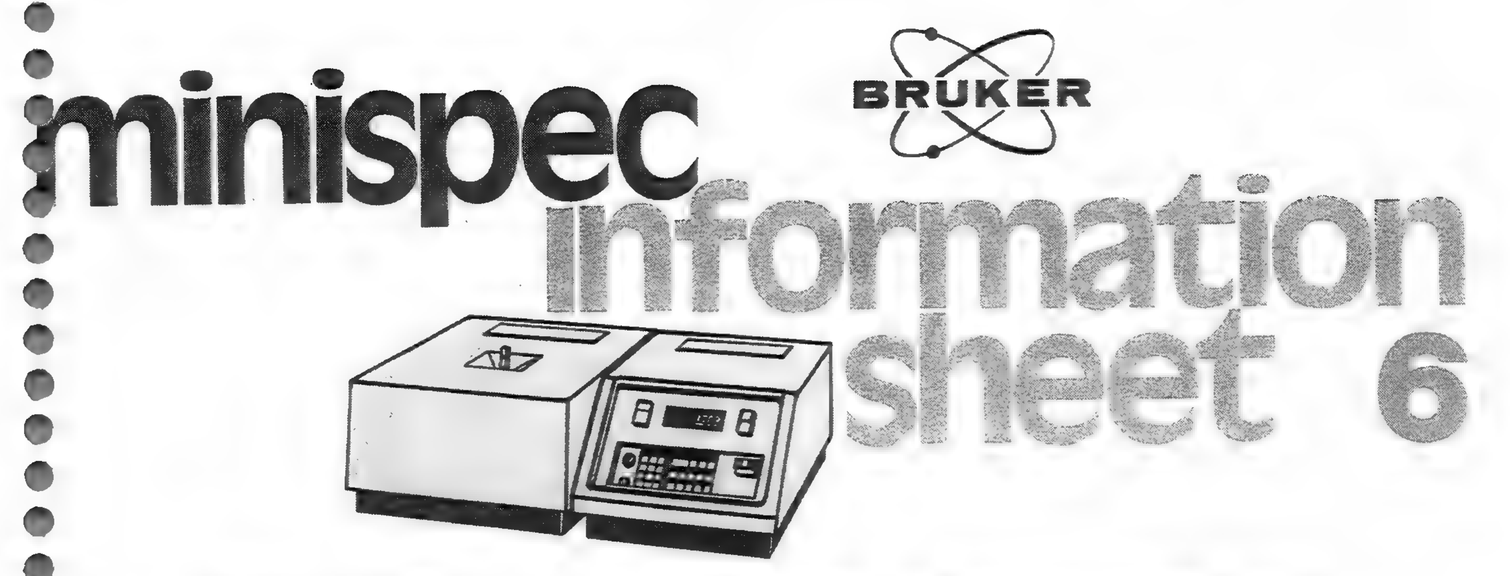
- ☐ weigh sample, weigh can be entered automatically via digital balance interface
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ signal intensity following radiofrequency pulse (proportional to amount of moisture) is measured
- ☐ percent moisture is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 20 method

- ☐ results are obtained almost immediately, resulting in less "down-time", waiting for lab results
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ independent of operator technique; can set one analytical standard among plants or shifts
- ☐ automatic hard copy available
- ☐ less energy consumption

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Wikingerstrasse 13
D-7500 Karlsruhe 21 (West Germany)
Tel. (0721) 5967-0, Telex 7 825 656 bruk d



Determination of the Total Hydrogen Content of Coal

A rapid means of measuring the total hydrogen content of coal may be of interest to coal mines, large consumers of coal such as power stations, or to those companies conducting research into the conversion of coal to a more universal energy source.

The usual method of determining the H content of coal is by C, H, N analysis. This is a complicated procedure involving burning of the coal sample in a special apparatus and collection of the combustion products in gas traps. Very precise weighings of the original sample and of the traps before and after burning enable the amounts of C, H and N in the sample to be calculated. The analysis is time-consuming, requires a specially-trained technican and is susceptible to errors in weighing, data transcription and mathematical computation.

The minispec pc 20 is not capable of making the complete C, H, N analysis but it does provide a very fast method for determining hydrogen. The NMR technique is economical, requires little energy and results are obtained in seconds. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The results are reproducible and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – C, H, N analysis

- ☐ set-up and calibrate apparatus
- ☐ weigh sample and traps
- ☐ burn sample
- ☐ re-weigh traps
- ☐ calculate per cent C, H, N

pc 20 method-pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

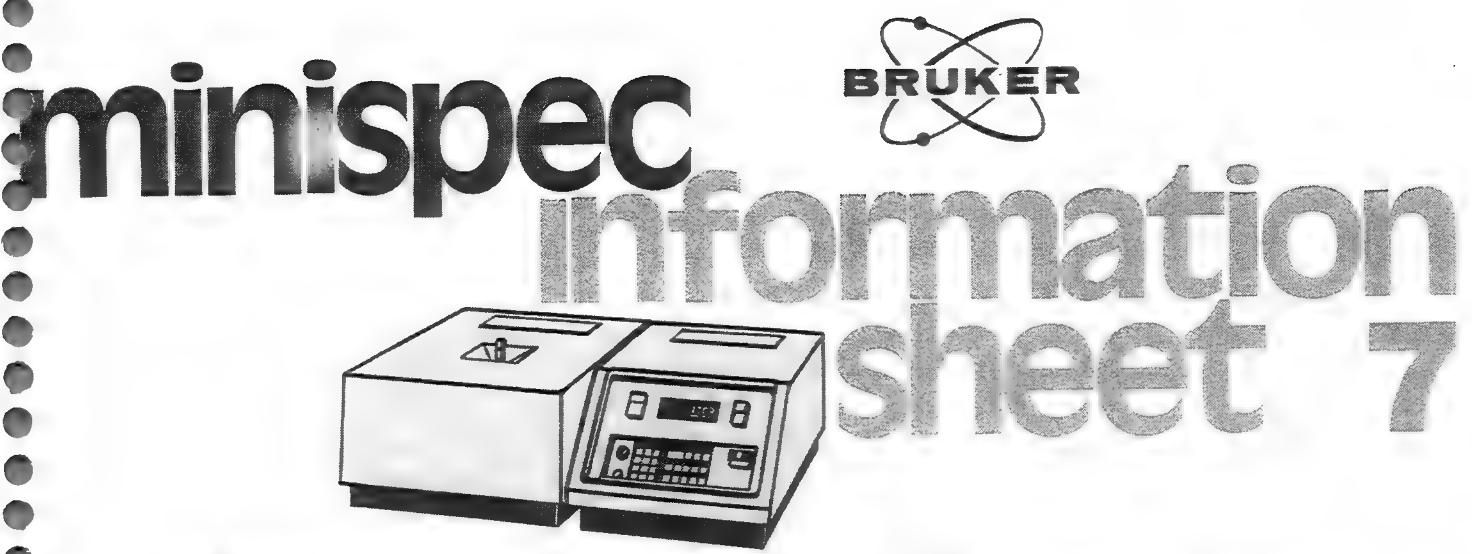
- ☐ weigh sample, weight can be entered automatically via balance interface
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ signal intensity following radio frequency pulse (proportional to hydrogen content) is measured
- ☐ per cent hydrogen is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages and pc 20 method

- ☐ results are obtained almost immediately
- ☐ apparatus does not need frequent recalibration
- ☐ analysis can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ independent of operator technique; can set one analytical standard among plants or shifts
- ☐ automatic hard copy available

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Wikingerstrasse 13
D-7500 Karlsruhe 21 (West Germany)
Tel. (0721) 5967-0, Telex 7 825 656 bruk d



The Determination of Moisture in Catalysts

A rapid method for the determination of the water content in catalysts may be of interest to both the manufacturers and users of catalysts.

The traditional methods for the determination of moisture content in catalysts are oven drying and Karl Fischer titration. The former involves weighing the sample, heating at elevated temperatures to drive off all the moisture present and reweighing. The percentage moisture content is calculated from the weight loss. Errors can occur in sample weighing, data transcription and mathematical computation. The Karl Fischer technique is susceptible to similar errors and in addition utilises noxious and flammable chemicals presenting handling and disposal problems.

The use of pulsed NMR to determine the moisture content of catalysts is a superior alternative to the traditional methods. The NMR technique is economical, requires less energy, is nondestructive and results are obtained in seconds. Although initial instrument set-up requires a trained person, in routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The timeliness and ease of acquisition of the results makes this technique invaluable for immediate in-line testing in a production or quality-control environment. The results are repeatable and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant and allowing closer moisture content tolerance standards to be established for product consistency.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – weight loss on drying

- ☐ weigh out samples
- ☐ heat in oven
- ☐ weigh again
- ☐ calculate per cent moisture from weight loss

Current method – Karl Fischer titration

- ☐ calibrate apparatus (at least daily)
- ☐ weigh sample
- ☐ titrate with Karl Fischer reagent
- ☐ calculate moisture content from amount of titrant used

pc 20 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

in routine use:

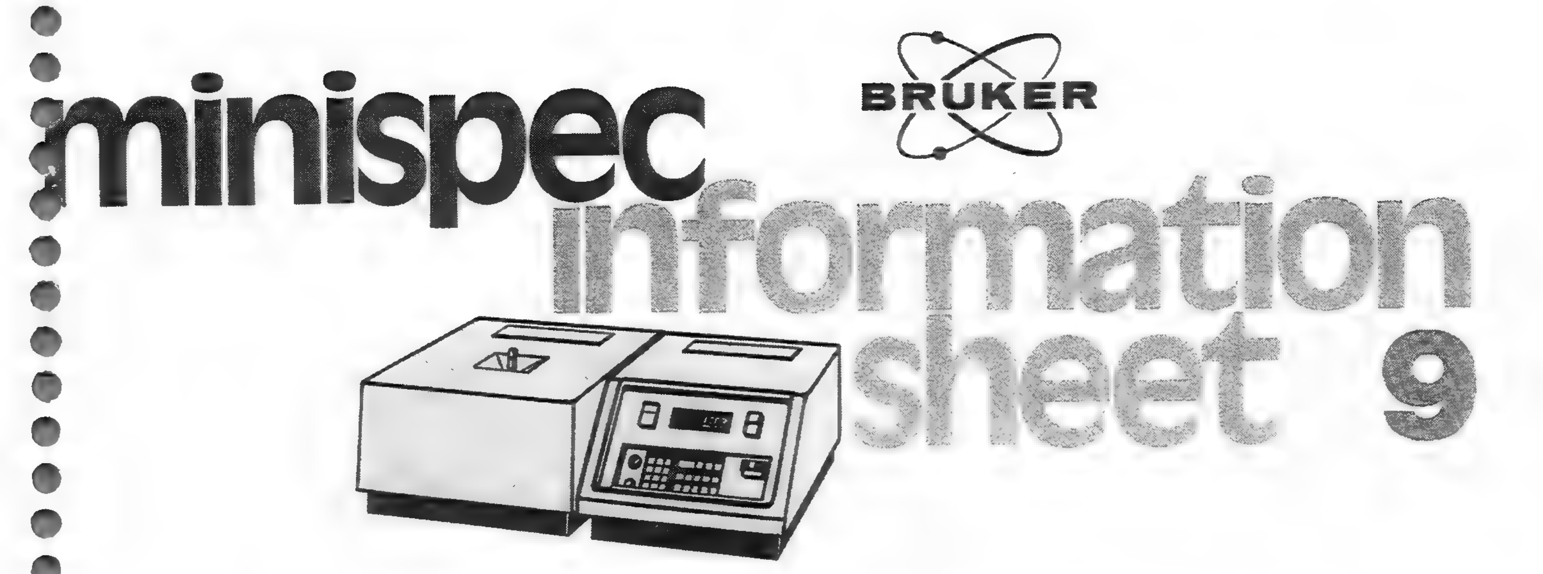
- ☐ weigh sample, weight can be entered automatically via digital balance interface
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ signal intensity following radiofrequency pulse (proportional to amount of moisture) is measured
- ☐ percent moisture is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 20 method

- ☐ results are obtained almost immediately, resulting in less "down-time", waiting for lab results, and the possibility of using moisture as a process control variable
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ independent of operator technique; can set one analytical standard among plants and shifts
- ☐ automatic hard copy available
- ☐ less energy consumption

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Wikingerstrasse 13
D-7500 Karlsruhe 21 (West Germany)
Tel. (0721) 5967-0, Telex 7 825 656 bruk d



Determination of Elastomer, Plasticiser, etc. in Polymers

One of the most important ways in which the properties of a polymer product can be modified is by the incorporation, either as a copolymer or additive, of a second component. Clearly, the composition of such a mixture is a very important quality control parameter which must be closely monitored.

The traditional means of performing this analysis include wet chemical methods such as titration. These have the disadvantages that they are time-consuming and can only be carried out by trained personnel.

Pulsed NMR using the BRUKER minispec pc120 is a superior alternative to the conventional methods of analysis. This instrument provides results simply and accurately in a very short time. Its ease of use enables it to be used by personnel with only a minimum of instruction, either in the quality-control laboratory or on the plant-floor. Weighing is the only sample preparation step necessary. The results are calculated by the instrument's microprocessor and displayed automatically. The rapidity and ease of acquisition of the data makes this technique invaluable for immediate in-line testing in a production or quality-control environment.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current methods – wet chemistry

- ☐ many possible sources of error (weighing, titration, manual calculation etc.)
- ☐ time-consuming
- ☐ requires trained personnel

---

pc 120 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

In routine use:

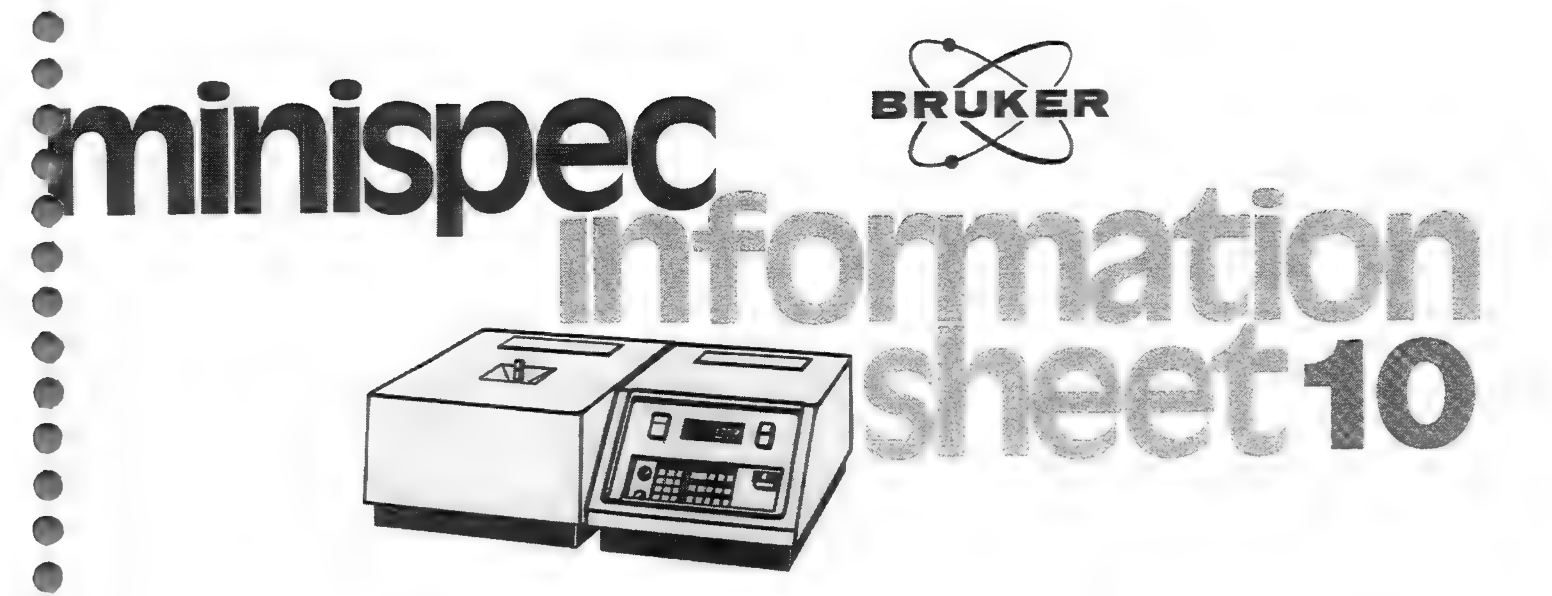
- ☐ weigh sample, weight can be entered automatically via digital balance interface
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ signal amplitude following radiofrequency pulse is measured
- ☐ desired result is calculated, displayed and printed

Advantages of pc 120 method

- ☐ results are obtained within seconds
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ automatic hard copy available

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Wikingerstrasse 13
D-7500 Karlsruhe 21 (West Germany)
Tel. (0721) 59 67-0, Telex 7 825 656 bruk d



Rapid Determination of Oil in Wax

The oil content of wax is a quality-control parameter of great importance. The traditional method of determining this quantity is by solvent extraction, a time-consuming procedure which can only be carried out by trained personnel. It involves the purchase, handling and disposal of flammable and noxious solvents. In addition, the many sample handling steps involved result in many possible sources of error.

The pulsed NMR method using the BRUKER minispec pc 120 for the determination of oil in wax is a superior alternative to the traditional technique of solvent extraction. The NMR method is economical, requires much less energy and results are obtained in seconds. In routine use measurements can be made by plant personnel on-site where data is required. The rapidity and ease of acquisition of the results makes this technique invaluable for immediate testing in a production or quality-control environment. The results are reproducible and independent of operator technique permitting standardization among plants or shifts of a plant and allowing the establishment of closer oil content tolerance limits for greater product consistency.

Comparison of Conventional and NMR Techniques

Current method – solvent extraction

- ☐ weigh sample
- ☐ extract oil with solvent
- ☐ calculate per cent fat

---

pc 120 method – pulsed NMR

- ☐ initial calibration performed only once

In routine use:

- ☐ thermostat samples
- ☐ insert sample, instrument triggered automatically
- ☐ percentage oil content is calculated automatically
- ☐ result is displayed and printed

Advantages of pc 120 method

- ☐ results are obtained within seconds
- ☐ analyses can be performed by untrained, plant-floor personnel
- ☐ highly reproducible and accurate
- ☐ automatic hard copy available

For more information please contact:

BRUKER ANALYTISCHE MESSTECHNIK GMBH
Wikingerstrasse 13
D-7500 Karlsruhe 21 (West Germany)
Tel. (0721) 59 67-0, Telex 7 825 656 bruk d

BIOSPEC Applications: Forestry Research

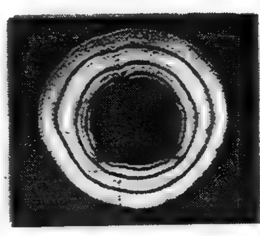
L. Kucera, Institute for Forest and Wood Research, ETH Zuerich
P. Brunner, SPECTROSPIN AG, Zuerich

The increasingly poor condition of trees in our forests has become a subject of major concern throughout Europe. The high-field BIOSPEC NMR systems have shown to offer important contributions to forestry research.

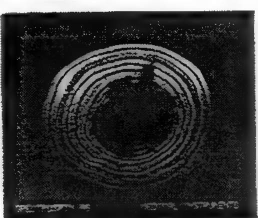
The physiological activity of the crown (photosynthesis and respiration) is directly related to the amount of available transpiration water. The maximum water transport depends upon the transport velocity and the available conducting cross-section. Both of these parameters can be measured by means of MR-tomography. In cooperation with Dr. L. Kucera of the Institute for Forest and Wood Research we have made initial studies using a BIOSPEC BMT 47/30 system. The promising early results have encouraged the ETH, Zuerich, to support a research project.

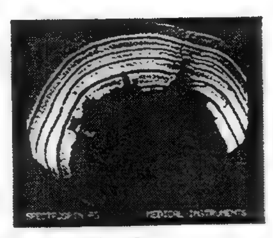


The biological applications of MR-tomography/in-vivo spectroscopy are not limited to tree growth research. Efficient use of these techniques could also be made for quality control of wood used in the lumber industry.
In particular, the effects of storage could be monitored. NMR methods also offer unique possibilities for the study of plant biology, growth, and metabolism.

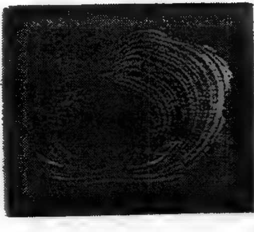


Trunk wood of a diseased larch. In spite of its young age the center of this tree has changed to heartwood. The annual rings in the sapwood can be easily distinguished by virtue of the variation in signal intensity (ie. water content) of the early and late wood zones.

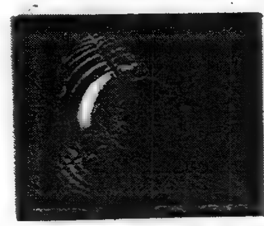




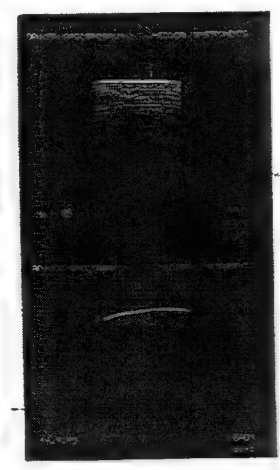
Trunk wood of an apparently healthy larch. The MR-tomogram shows a starshaped extension of the heartwood. The tree will most likely die.



Root wood of an apparently healthy spruce. The irregular distribution of water in the cross-section with a peripheral dry zone indicates a latent early stage of damage.



Trunk wood of a dead larch.



Top:
Trunk wood of a healthy spruce.

Bottom:
Trunk wood of an unhealthy spruce, showing two annual rings in the sapwood. In spite of little crown damage, the tree is on the verge of dying.

APLICACIONES EN BIOMEDICINA DE LA RMN

Curso teórico de RMN
Pontificia Universidad Católica de Ecuador
Bernardo Celda Muñoz

Parte I

Generalidades, historia, definición, ventajas. Átomo, espín nuclear. Vectores. Alineación, precesión. Vector de magnetización.

Fundamentos de la enseñanza de la IRM



Una nueva forma de pensar

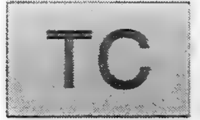
El aprendizaje y la enseñanza de la RM exige una forma de pensar diferente a la de los demás métodos radiológicos. Con frecuencia, la complejidad de sus bases físicas y tecnológicas desaniman al usuario de la RM. Intentaremos que este atlas le facilite el aprendizaje y la comprensión de esta técnica. Las explicaciones que se ofrecen son intuitivas, sin fórmulas. Tan solo la ecuación de Larmor es importante, no como fórmula sino como concepto a tener siempre presente.

No se desespere, verá como la tecnología de la RM no es tan ardua.

- **Principios físicos diferentes** de US, RX, MN, etc.
- Creación de imágenes: **proceso complejo** (múltiples parámetros, proceso de formación de la imagen)
- **Nuevos conocimientos** de anatomía y patología.
- **Actividad conjunta:** técnicos, médicos, físicos.

La complejidad de la tecnología de la RM radica en unos principios físicos diferentes de cualquier otro método de imagen médica, como los ultrasonidos, los métodos que utilizan RX y la medicina nuclear. En RM la formación de imágenes es un proceso complicado tanto por sus bases físicas como por los múltiples parámetros que se pueden variar para la adquisición de las imágenes. La obtención de diferentes planos y proyecciones anatómicas exigen nuevos conocimientos de anatomía e incluso de la patología.

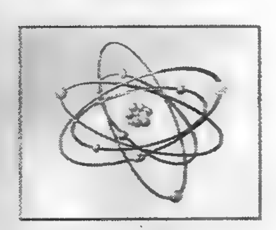
Por todo esto, la RM exige la colaboración estrecha de técnicos, radiólogos y físicos.

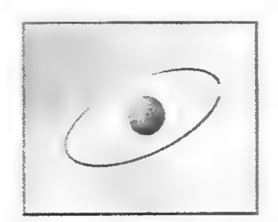




Densidad electrónica

Núcleos de ^{1}H Protones





La TC, como método que utiliza RX, se basa en la absorción de los RX por los electrones corticales.

La RM utiliza las propiedades de resonancia de los núcleos de hidrógeno.

En IRM se utiliza indistintamente el témino núcleo de ^{1}H y protón.



Fenómeno físico-químico mencionado por primera vez en la literatura científica hace 54 años



La RM para formar imágenes es joven

La resonancia magnética nuclear es un fenómeno físico conocido desde el año 1946. En sus orígenes no se utilizó para producir imágenes clínicas; era una herramienta utilizada por químicos y físicos para el estudio analítico de materiales, análisis de la estructura química y configuración de estructuras.

Fue en 1973 cuando Lauterbur descubrió la posibilidad de utilizar el fenómeno de la resonancia para la producción de imágenes.

F. Bloch, *Stanford Univ.*
E. M. Purcell, *Harvard Univ.*

Premios Nobel de Física, 1952

R. R. Ernst

Premio Nobel de Química, 1991
Espectroscopía

El descubrimiento del fenómeno físico de la resonancia se produjo en 1946, simultánea pero independientemente, por dos grupos de investigación: Bloch y cols. en la Universidad de Stanford, y Purcell y cols. en la Universidad de Harvard. Este descubrimiento les valió el premio Nobel conjunto a Bloch y Purcell en 1952. El Dr. Bloch falleció en 1983, y el Dr. Purcell es profesor emérito de Harvard.

En 1991, por sus investigaciones sobre espectroscopía de RM, le fue concedido a Ernst el premio Nobel de química.

1946 Bloch y cols, *Stanford University*
Purcell y cols, *Harvard University*
Primeros experimentos en RNM

1952 Premio Nobel de Física

1967 Jasper Johns
Primera imagen en vivo

1972 Lauterbur, *State University*
Primera imagen 2D

Pocos años después de los primeros experimentos con RM, Purcell y Ramsey introdujeron la cabeza en el imán de 2T de Harvard. Alrededor de la cabeza tenían una antena de RF que lo único que registró fue la señal de los empastes metálicos dentales cuando introducían y sacaban la cabeza del imán.

No fue hasta la década de los ochenta cuando se iniciaron los primeros estudios clínicos. Entre ambas fechas la investigación se centró preferentemente en la codificación espacial de la señal para poder formar imágenes.

Es de destacar que 50 años más tarde, desde los primeros experimentos, no se ha detectado ningún efecto adverso derivado de esta aventura magnética.

Resonancia: coincidir CM y frecuencia

Nuclear: sólo reaccionan los núcleos de ciertos átomos

Magnética: sólo en el seno de un CM

RNM o RMN son las siglas de:

- RESONANCIA: La frecuencia de precesión de un átomo depende del campo magnético (CM) en el que está inmerso. En este estado el átomo es capaz de absorber energía de radiofrecuencia que se le envíe a su propia frecuencia de resonancia.
- NUCLEAR: Porque es el núcleo del átomo el que genera la señal.
- MAGNÉTICA: Porque sólo puede suceder en el seno de un potente campo magnético.

NMR *(Nuclear Magnetic Resonance)*
RNM (Resonancia Nuclear Magnética)





Magnetic Resonance Imaging
Imagen por Resonancia Magnética

- IRM con electrones orbitales
- No confundir con la Medicina Nuclear
- Mala reputación de la energía atómica

Actualmente se desestima la utilización de la palabra "nuclear", denominándose imagen por resonancia magnética (IRM, o MRI en inglés), o en todo caso resonancia magnética (RM) a secas.

La palabra nuclear debe desecharse, pues puede confundirse con técnicas de medicina nuclear, o sugerir implicaciones con la energía nuclear.

Otro motivo para no denominarla nuclear es el hecho de que actualmente se investiga la posibilidad de efectuar experimentos de RM con los electrones corticales, en vez de con los núcleos.



La primera imagen de cuerpo se adquirió en el año 1977 en el Smithsonian Institute de Washington, por Minkoff y Goldsmith.



Los aparatos para la adquisición de imágenes por RM, o tomógrafos de RM, son similares externamente a un equipo de tomografía computarizada (TC). El túnel *(gantry)* contiene el imán y demás componentes, como las bobinas de gradientes, bobinas emisoras de RF, aislantes, etc.

La mesa tiene un tablero deslizante para introducir al paciente.

La similitud entre equipos de TC y RM es exclusivamente externa.



Ventajas I

- **Tomografía multiplanar**
  planos en cualquier dirección
- **Resolución de contraste**
  cientos de veces mayor que la de cualquier otro método de diagnóstico por imagen
- **Manejo del contraste**

La IRM es un método tomográfico que permite obtener planos (lonchas de estructuras) en cualquier dirección del espacio. Su capacidad para distinguir estructuras que tienen diferente composición (diferenciación o resolución de contraste) es superior a la de cualquier otro método de obtención de imagen (cientos de veces superior). Además, se puede manejar el contraste: un tejido puede verse claro, oscuro o en toda la gama intermedia de grises. Incluso se puede anular su señal.



Ventajas II

- Inocuo
- No invasivo
- Buena resolución espacial
- Estudios vasculares:
  sin medios de contraste
  con medios de contraste (mucho más seguros que los yodados)

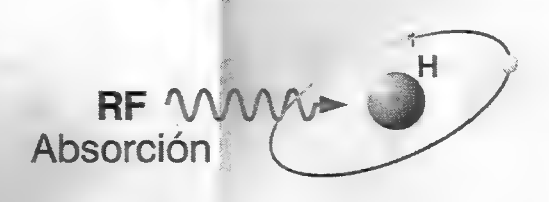
Al no utilizar radiaciones ionizantes, el método es, en principio, inocuo y no invasivo. La resolución espacial es cada vez mayor. Aunque no es un estándar, hoy se pueden adquirir imágenes con matrices de hasta 1024 x 1024 píxeles: el tamaño del píxel puede ser de menos de 1 mm.

Es posible efectuar estudios vasculares sin medio de contraste *(Time of flight, phase contrast)*. En caso de utilizarse medios de contraste (generalmente son compuestos de gadolinio), éstos son más seguros que los contrastes yodados utilizados en radiología.



RNM

Basada en la propiedad de los núcleos de algunos elementos

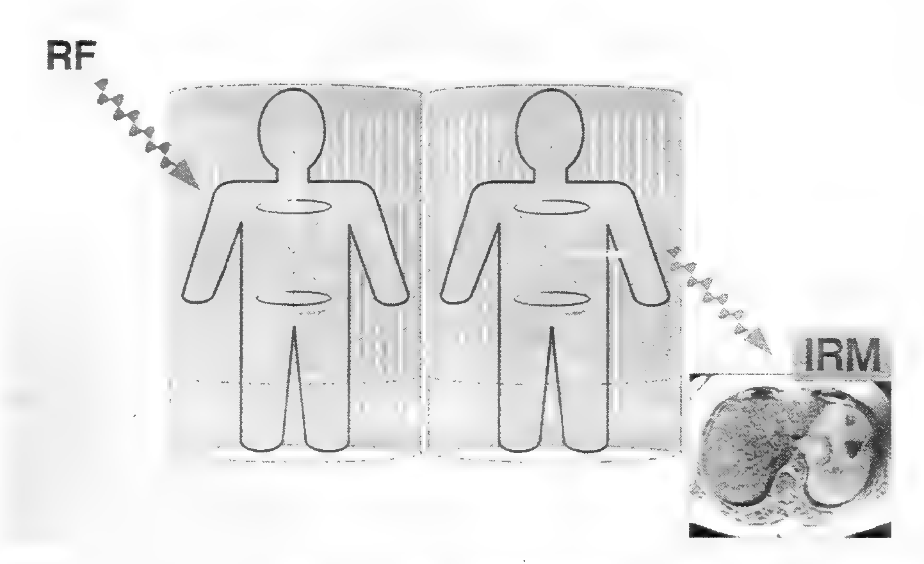


RF
Emisión

IRM

Un poco de física...

El fenómeno de la resonancia magnética nuclear (RMN) se basa en la propiedad que muestran los núcleos de algunos elementos, como el ^{1}H que, introducidos en un potente campo magnético, pueden absorber ondas electromagnéticas de radiofrecuencia a su propia frecuencia de resonancia (excitación), y posteriormente emitirlas (relajación). La emisión de esta RF se puede utilizar para formar las imágenes.



En esencia, y aunque todo este proceso se tratará mas extensamente, la radiofrecuencia hace que se incline un vector de magnetización neto formado por los protones del ^{1}H del paciente. Este vector magnético en estado de relajación es paralelo al campo magnético. La radiofrecuencia lo inclina hacia el plano transversal (generalmente 90º).

Este vector gira (precesa), y su paso alternativo por delante de una bobina devuelve la RF en forma de corriente eléctrica, que posteriormente servirá para formar la imagen. Una imagen de RM es la representación espacial de la distribución de magnetizaciones

Todo este proceso se analizará detenidamente en las próximas páginas.

Elementos necesarios para efectuar RM

- Núcleos de hidrógeno
- Campo magnético
- Radiofrecuencia
  - antenas emisoras
  - antenas receptoras

Los tres elementos necesarios para la RM son: los núcleos de hidrógeno de los diferentes tejidos, un potente campo magnético producido por un imán, y antenas emisoras de RF para excitar a los átomos de hidrógeno y bobinas receptoras para captar la señal que devuelven.

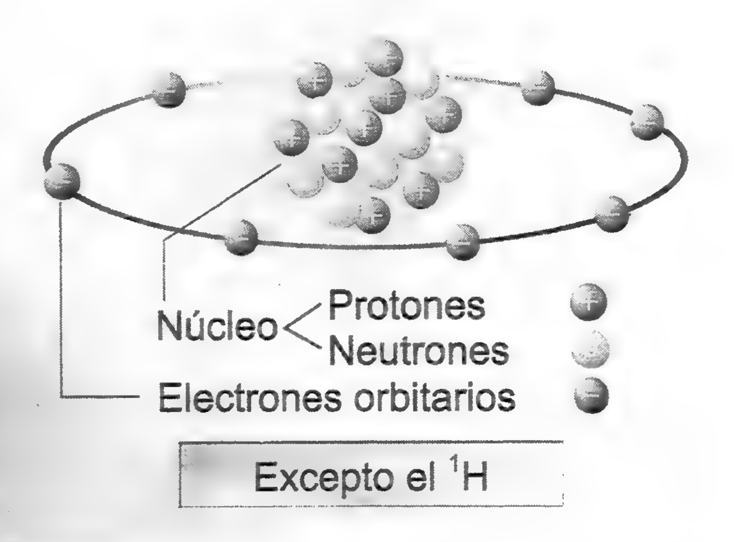
Nociones básicas imprescindibles sobre

Átomo

Espín nuclear

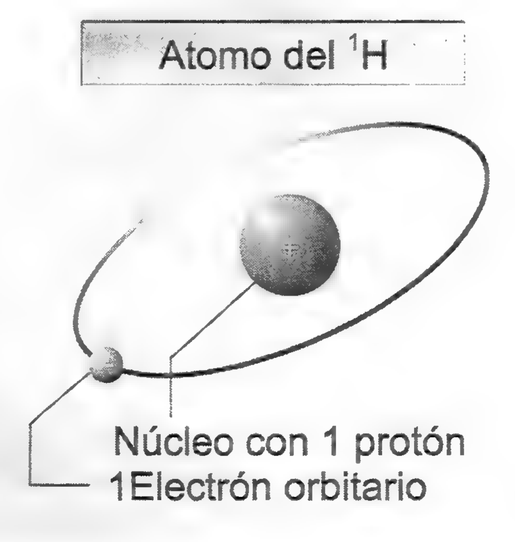
Momento magnético

Vamos a recordar algunas nociones imprescindibles, pero básicas, sobre el átomo, el espín nuclear y el momento magnético del protón.



Todos los átomos tienen un núcleo compuesto de protones (que tienen una carga eléctrica positiva) y neutrones (que no tienen carga eléctrica). Girando alrededor del núcleo existen electrones corticales o planetarios (con carga eléctrica negativa).

Sin embargo, el ^1H es el único elemento que no tiene neutrones en su núcleo.



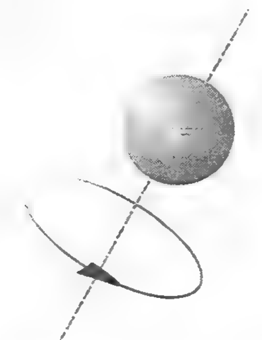
El núcleo del ^1H tiene únicamente una partícula, un protón, y un solo electrón cortical.

Átomo de hidrógeno
Núcleo de hidrógeno
Núcleo
Protón
Espín

En la literatura sobre RM, con frecuencia, el núcleo del hidrógeno se denomina también átomo de hidrógeno, núcleo de hidrógeno, núcleo, protón, o espín. Anque conceptualmente no es correcto, especialmente el término espín, por convención, todos estos términos se utilizan indistintamente.





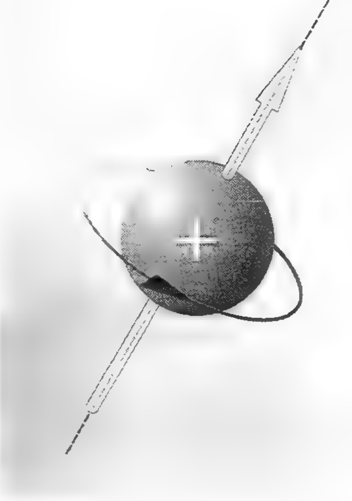


ESPÍN
(rotación alrededor del eje)

Momento Angular
(Cantidad de movimiento de rotación)

Todos los núcleos que tienen un número impar de protones y/ o de neutrones, poseen un movimiente alrededor de su eje (como el movimiento de rotación de la tierra) denominado espín (recordar que el protón tambin recibe la denominación de espín). El ^{1}H cumple esta condición, ya que tiene un número impar de protones: sólo tiene uno.

La carácterística de este movimiento de rotación se define como momento angular.



Toda carga eléctrica que gira sobre sí misma

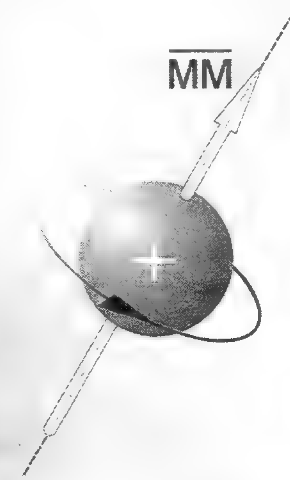


DIPOLO MAGNÉTICO



Además, toda carga eléctrica (en este caso el protón) que gire sobre sí misma, se comporta como un imán o dipolo magnético.

Así, todos los protones del organismo actúan como pequeñísimos imanes.



El Vector $\overline{MM}$
MOMENTO MAGNÉTICO



Dirección (eje de rotación)
Fuerza (tamaño)

El $\overline{MM}$ del ^{1}H es mayor que el de cualquier otro elemento

El vector denominado momento magnético (MM) define la dirección y la fuerza del imán. Uno de los motivos por los que se utiliza el ^{1}H para la IRM es que su MM es mayor que el de cualquier otro elemento.



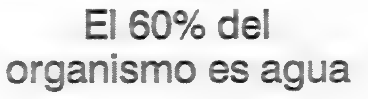
^{1}H

Más abundante que cualquier otro elemento

(en forma de agua y lípidos)

H_2O • $-CH_2-$

10^{19} protones / mm^3



Pero no sólo se utiliza el ^{1}H por la magnitud de su MM, sino además por su gran abundancia en el organismo. Para la IRM se utilizan los protones contenidos en el agua y en la grasa (cadenas de triglicéridos).

¡En 1 mm^3 de agua existen 10.000.000.000.000.000.000 de protones!.

Núcleos con espín	Concentración molar (Mol/l)	Relación giromagnética (MHz/T)	Sensibilidad (relativa al H)
^{1}H	99,0000	42,58	1,0000
^{14}N	1,6000	3,08	---
^{31}P	0,3500	17,24	0,0660
^{13}C	0,1000	10,71	0,0160
^{23}Na	0,0780	11,26	0,0930
^{39}K	0,0450	1,99	0,0005
^{17}O	0,0310	5,77	0,0290
^{2}H	0,0150	6,53	0,0096
^{19}F	0,0066	40,05	0,8300

En esta tabla se puede comparar la abundancia del ^{1}H con respecto a otros elementos, cuyos núcleos cumplen las condiciones para poder efectuar un experimento de RM. También se compara la relación giromagnética, o velocidad del movimiento de precesión medida en MHz. Esta depende del campo magnético del imán (B_0), como veremos más adelante.

Según los parámetros anteriores, si consideramos la sensibilidad relativa al ^{1}H como la unidad, observamos cómo la de los demás elementos es menor.

¿ Conocimientos matemáticos y físicos ?

VECTORES



"Herramientas"



Dos características
- Magnitud (cantidad de fuerza)
- Dirección

.. Y ahora las matemáticas.

Para una correcta comprensión de la tecnología de la RM no son necesarios conocimientos físicos ni matemáticos. Simplemente sabiendo como se suman y restan vectores podemos explicar muchas cosas de la RM. Los vectores tienen dos características: magnitud (tamaño) y dirección.

Los VECTORES se suman Cabeza con Cola

(por cualquier orden)

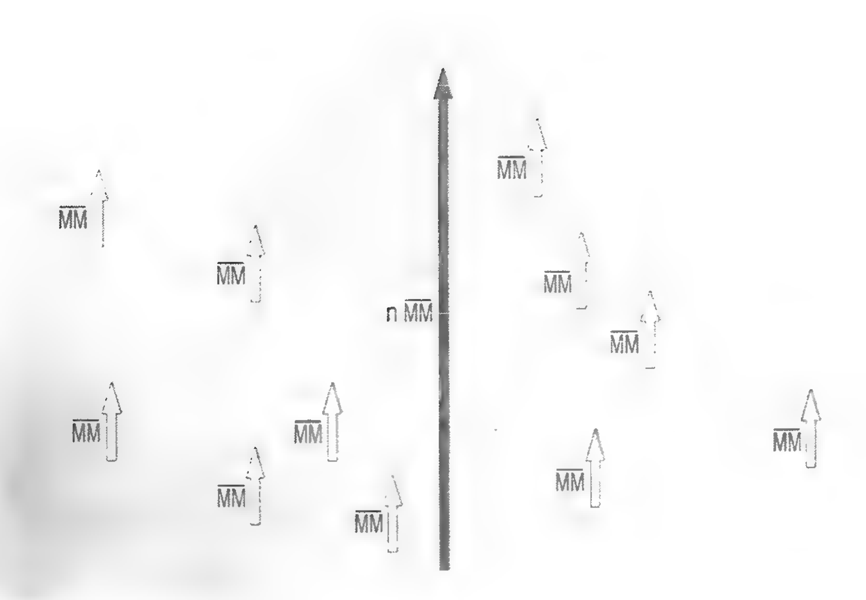
1 → + 1 → = 2 →

1 → + 1 ← = 0

1 ↗ + 1 ↘ = ≃1,5 →

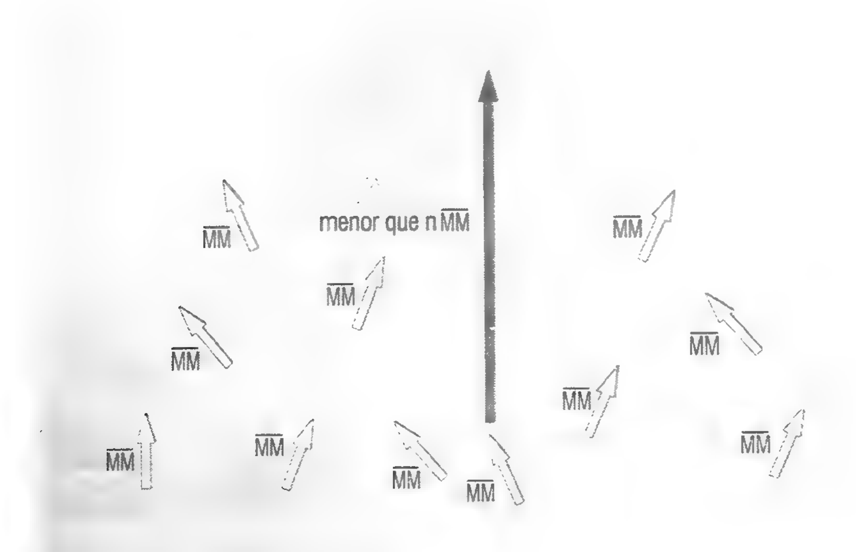
90°

Los vectores (en el caso de RM se trata de los vectores magnéticos o MM de los protones) se suman cabeza con cola, como muestra el esquema adjunto.

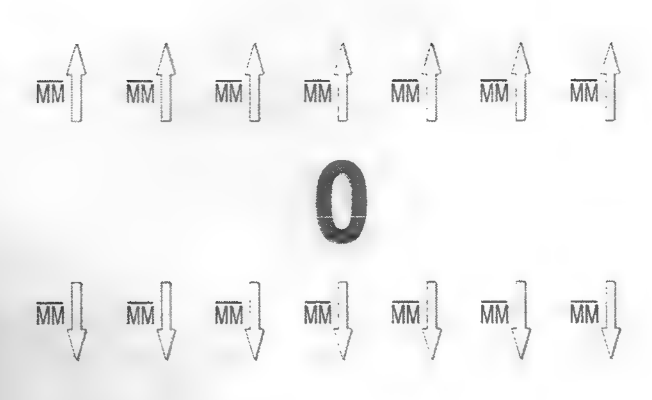


Por ejemplo, la suma de todos los vectores pequeños (podrían representar los MM de los protones) sería un vector suma de todos los anteriores (en rojo).

Este se denomina vector de magnetización neto.



Si los MM de los protones no apuntan en la misma dirección, como en este ejemplo, la suma es un vector neto de menor magnitud

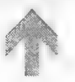


En este caso, donde existe un número de MM en una dirección y el mismo número en la dirección opuesta, no existe vector neto.

Momento Magnético Neto



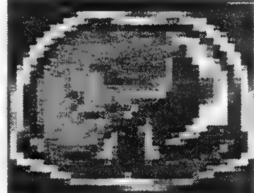
VECTOR NETO



Suma de los Momentos Magnéticos de todos los protones en un volumen determinado

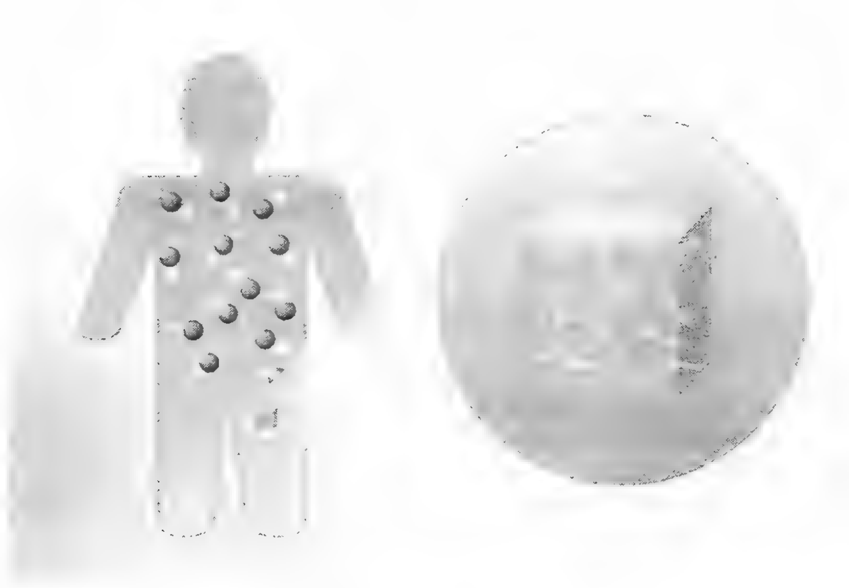
(Ej: un vóxel)

Representación final



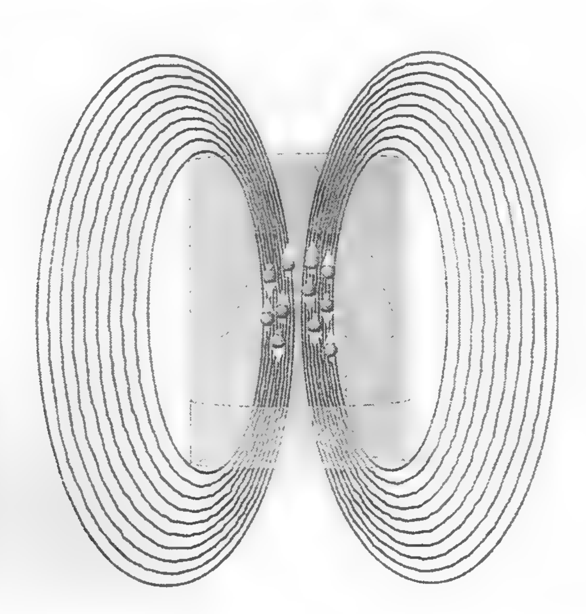
En IRM, al tratarse de una imagen digital, cada corte o loncha está compuesto de vóxeles. Para la formación de la imagen se maneja el vector neto (MM neto), suma de todos los protones contenidos en un vóxel.

En la imagen final se representa la intensidad de cada vóxel con un tono de gris.



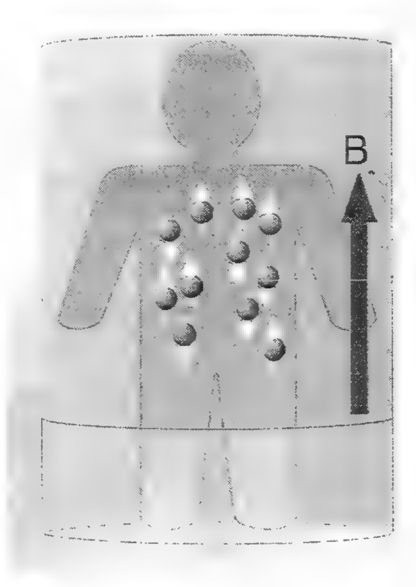
A pesar de todo lo anteriormente expuesto es evidente que nosotros no estamos magnetizados. (¡afortunadamente no atraemos objetos ferromagnéticos!). Esto es debido a que los MM de los protones "en el medio ambiente natural de los tejidos" apuntan en todas las direcciones del espacio y se anulan unos con otros.

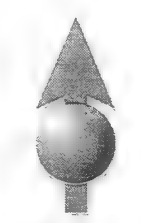
En el esquema se representan los MM en un vóxel.

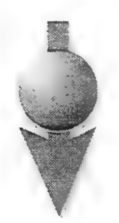


Veamos qué sucede cuando se introduce un tejido en un potente campo magnético.

En el esquema se representan los protones y las líneas de flujo del CM del imán. Ya podemos ver como las líneas de dicho campo están más juntas en el centro del imán. El CM es aquí más intenso.







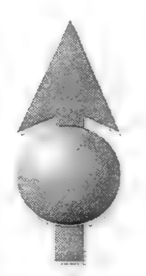
Paralelo | Antiparalelo

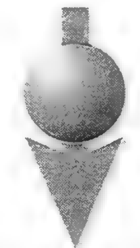
Modelo cuántico simple
del espín del protón

Sólo 2 direcciones de los momentos magnéticos

En estas circunstancias los protones se alinean con el campo magnético del imán (B_0) en dos direcciones: en el sentido del campo magnético y en sentido opuesto. Se denominan paralelos y antiparalelos, respectivamente.

En el dibujo se omiten las líneas de flujo del CM del imán, representando únicamente su vector neto denominado B_0. El campo magnético del imán también se representa por un vector, con una dirección (la de las líneas de flujo del CM) y un tamaño o magnitud (que depende de la intensidad del campo).



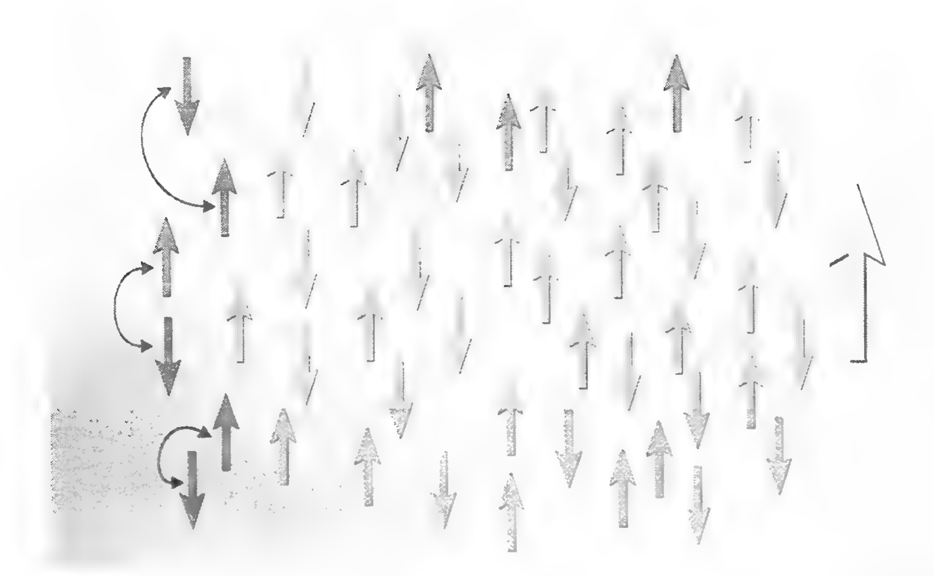


Paralelo Baja Energía N/S Estado Relajado	Antiparalelo Alta Energía S/N Estado Excitado

El estado paralelo también se denomina de baja energía, norte-sur o en estado relajado. El estado antiparalelo se denomina de alta energía, sur-norte, o estado excitado.

La diferencia de energías entre ambos estados es proporcional a B_0, de tal manera que cuanto mayor es el campo magnético, mayor es la diferencia energética y mayor es la señal de RM.

Parte I



Cuando se aplica el campo magnético externo o del imán (B_0), en una cantidad tan enorme de protones como la que contienen los tejidos, predominan unos pocos en sentido paralelo (vector coloreado en verde). Predominan muy pocos por cada millón de protones.

En equilibrio, la proporción entre uno y otro estado es constante y siempre existe un predominio neto de los protones de baja energía. El resultado es que el tejido forma un vector neto (vector coloreado en amarillo), suma de los vectores verdes. Los demás se anulan entre sí.

0,5 T	3 por millón
1,0 T	6 por millón
1,5 T	9 por millón

La proporción de predominio de los paralelos es directamente proporcional al CM del imán. En un CM de 0,5 Teslas (el Tesla es la unidad de intensidad del campo magnético del imán) predominan 3 por cada millón. En un campo magnético de 1 Tesla predominan 6 por cada millón y en uno de 1,5 Teslas predominan 9 por cada millón. Podemos ver claramente como el vector neto del tejido es por lo tanto mayor en un CM alto.

¡La señal de resonancia es mejor en campos magnéticos más intensos!.

12

2 mm

5 mm

2 mm

Exceso de protones

6×10^{15}

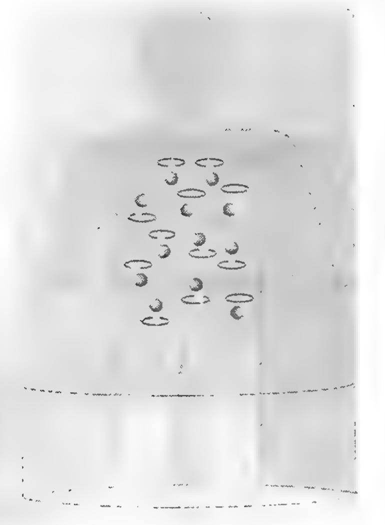
Estos pocos protones que predominan en sentido paralelo se denominan también "exceso de protones". Aunque la proporción es escasa, como la cantidad total de protones en una pequeña unidad de volumen es tan enorme, el exceso de protones en número neto es todavía considerable.

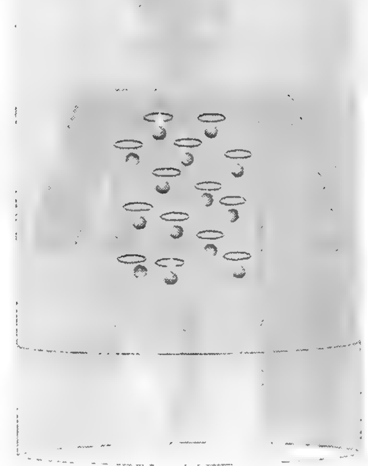
Por ejemplo, en un vóxel con unas dimensiones de 2 x 2 x 5 mm existen por término medio 6×10^{15} protones que predominan en sentido paralelo.



Simultáneamente a la alineación, sucede otro fenómeno: el movimiento de precesión. Los protones sufren un movimiento, como el de una peonza, alrededor de la dirección del CM del imán (línea discontinua vertical).

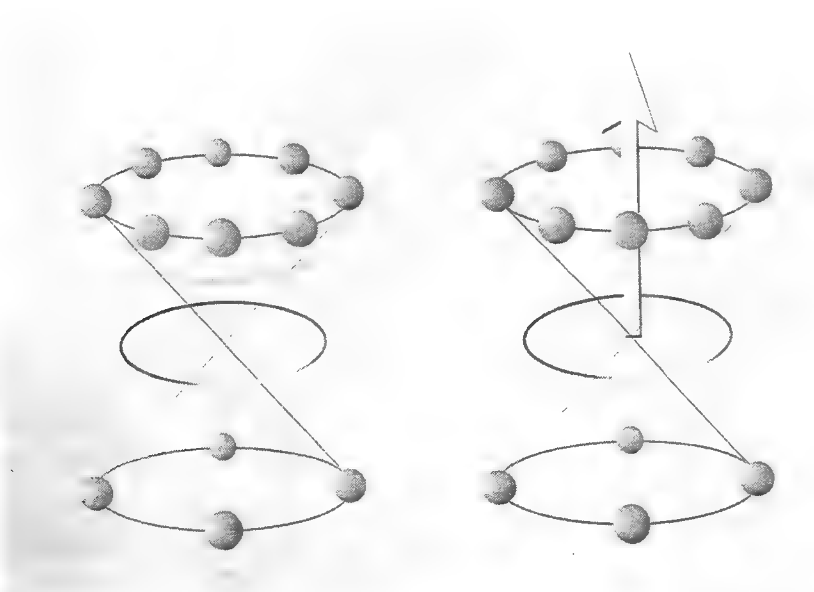
Parte I





En el dibujo de la izquierda observamos los protones paralelos y antiparalelos (alineación) y el movimiento de precesión de ambos. En esta situación la muestra está magnetizada.

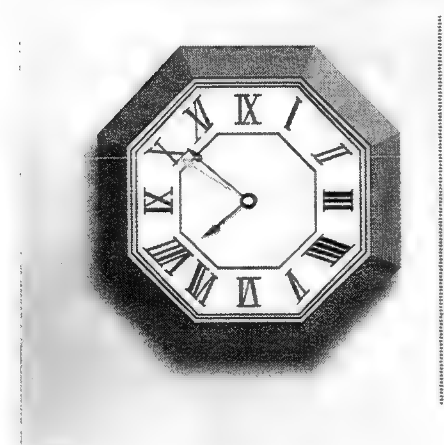
A la derecha sólo se representa el exceso de protones (los que van a formar el vector neto de los tejidos).

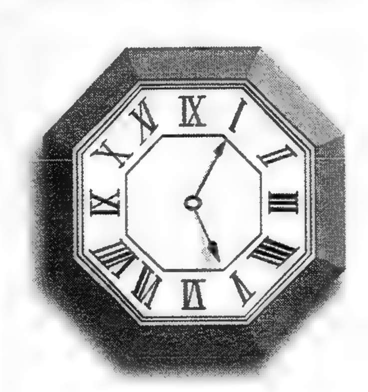


Este esquema será utilizado con asiduidad en este atlas. En el círculo superior se representan los protones paralelos. En el inferior, en menor número, los antiparalelos.

Se forma un vector neto en el sentido del predominio de los paralelos. Los círculos representan el movimiento de precesión de los protones. En un campo magnético igual, todos precesan con la misma frecuencia (misma velocidad angular), pero obsérvese que la fase es distinta. El vector neto es vertical y no inclinado, porque las diferentes fases se compensan. Si ponemos un símil horario, los que "están a las 3" se compensan con "los de las 9", etc.

Concepto de Fase y Frecuencia





Suponiendo que funcionen correctamente, ambos relojes tienen la misma velocidad en el avance de sus manillas (misma frecuencia), pero cada uno marca una hora distinta (distinta fase = posición de las agujas).

PRECESIÓN

"velocidad"

frecuencia angular

ω_0

FRECUENCIA DE LARMOR

La frecuencia o velocidad de precesión se denomina frecuencia de Larmor y se representa con las siglas ω_0. ω es la letra que representa la velocidad angular o frecuencia de giro.

$$\omega_0 = \gamma B_0$$

B_0 Fuerza del campo magnético

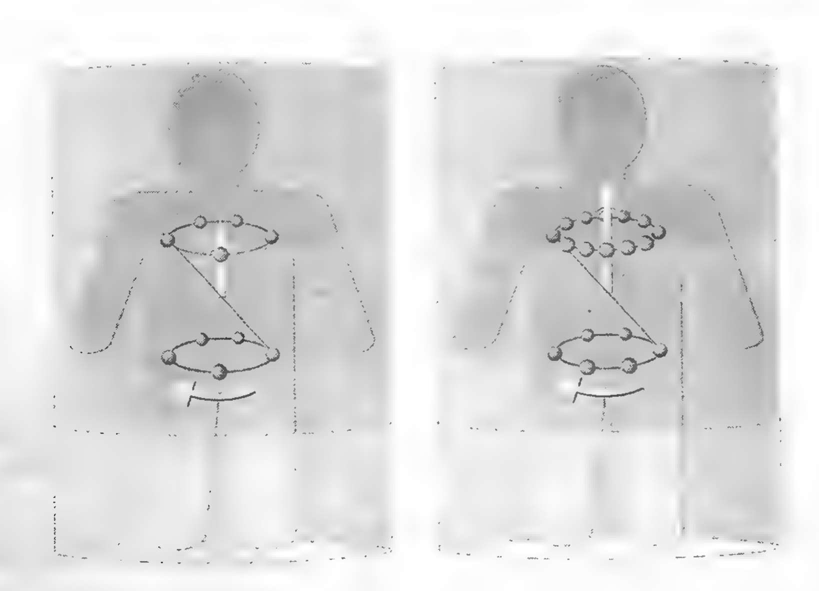
γ Relación giromagnética

Describe las propiedades magnéticas del núcleo
Es distinta para cada elemento

0,0064 T ⇒ 2,8 MHz
2,0000 T ⇒ 85 MHz

Según la fórmula anterior (perdón por introducir alguna fórmula), la frecuencia de precesión es proporcional al campo magnético del imán y depende de cada tipo de núcleo. En un campo magnético de 1 Tesla, la frecuencia de precesión del ^1H es de 42,5 MHz.

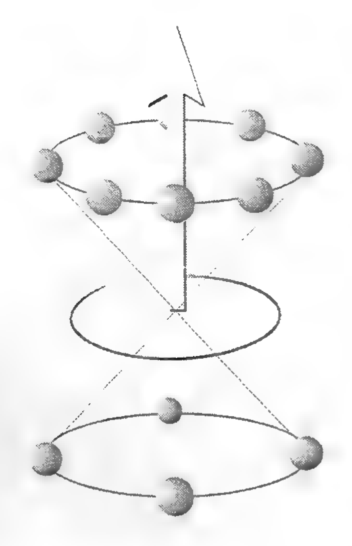
En el esquema se ponen como ejemplo las frecuencias de precesión del ^1H en campos magnéticos extremos utilizados para imágenes médicas.

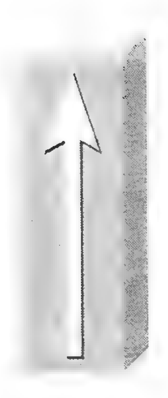


La consecuencia de utilizar un campo magnético menor es la formación de un vector de magnetización neto de los tejidos de menor tamaño. Cuando el campo magnético es mayor el vector de magnetización neto es mayor.

Este hecho tiene importantes implicaciones en la imagen. La señal de RM es mejor cuanto mayor es el campo magnético.

17





Como resumen de lo expuesto anteriormente, se puede concluir que los protones se alinean con el campo magnético del imán, que precesan a la misma velocidad pero con distinta fase y que se forma un vector neto de magnetización en la dirección del exceso de protones.

La señal más pequeña independizable es la que proviene de todos los protones de un vóxel.

Alineación
Precesión
Vector de magnetización neto
Influencia del campo magnético en el vector
Fase
Frecuencia

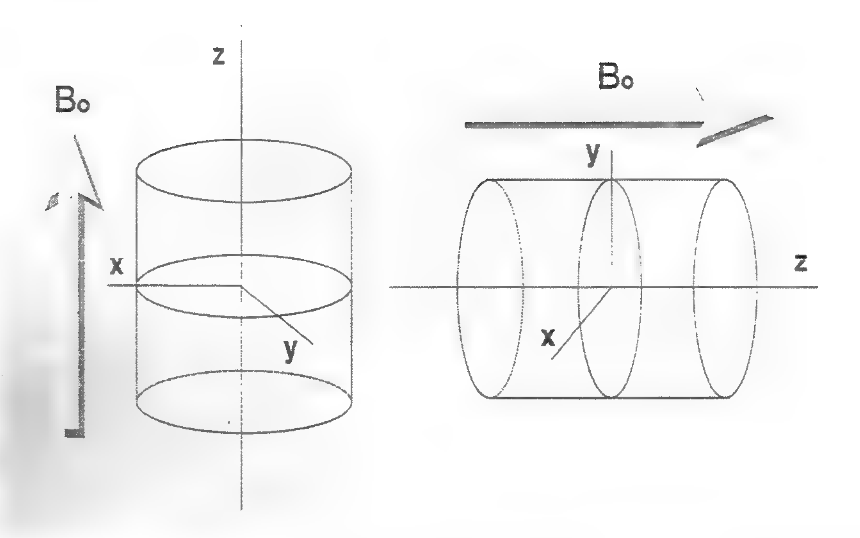
En este capítulo hemos revisado estos conceptos fundamentales.

15



Parte II

Magnetismo, unidades de medida, tipos de imanes, *shimming*, gradientes, *shielding*, corrientes *eddy*, susceptibilidad magnética. Antenas.



La dirección del campo magnético B_0 depende de la geometría del imán. Los imanes superconductivos suelen tener el campo siguiendo el eje del túnel, o sea paralelo al suelo, como se muestra en la figura de la derecha.

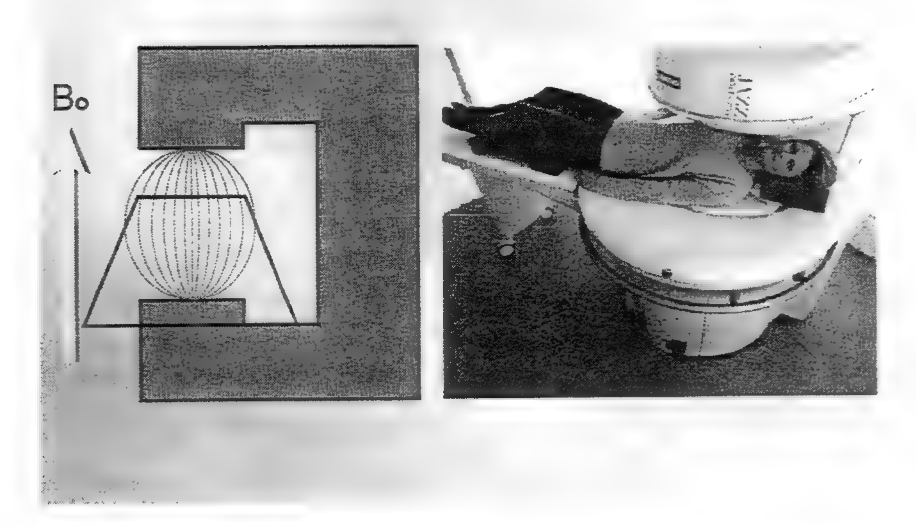
Los imanes permanentes tienen el campo vertical.

Por convención, se asigna el eje z a la dirección del campo magnético principal. X e Y, son los ejes perpendiculares a z, y perpendiculares entre sí.



Los imanes utilizados en los equipos de RM son de dos tipos: permanentes o electroimanes.

Los imanes permanentes se utilizan en los equipos de campo ultra bajo y bajo. En los equipos de campo medio, alto y ultra alto se utilizan electroimanes, generalmente superconductores.



Un imán permanente es una gran pieza de material ferromagnético. En realidad son pesadas estructuras de hierro en forma de C. El magnetismo es permanente (de ahí su denominación), y no necesitan aporte de energía externo para mantener el CM. Los extremos de la C son los polos norte y sur, entre los que se sitúan las líneas de flujo magnético.

IMÁN PERMANENTE



Campo magnético B_0 < 0,4 T

Ventajas

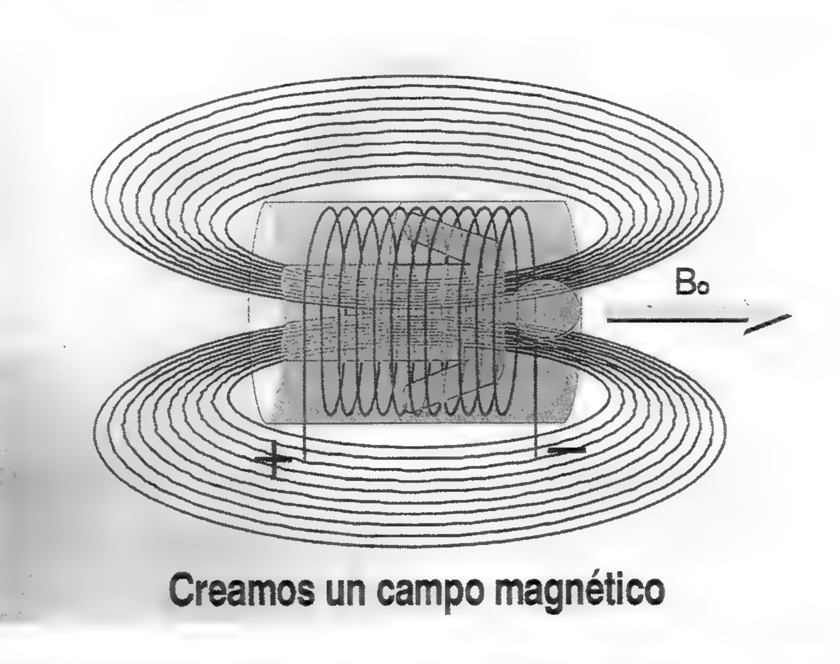
- Baratos
- No energía eléctrica
- No refrigeración
- Calidad de imagen suficiente para bastantes aplicaciones
- Buena tolerancia paciente

Inconvenientes

- No competitivos con otros tipos
- CM limitado
- Baja relación señal/ruido
- Pesados

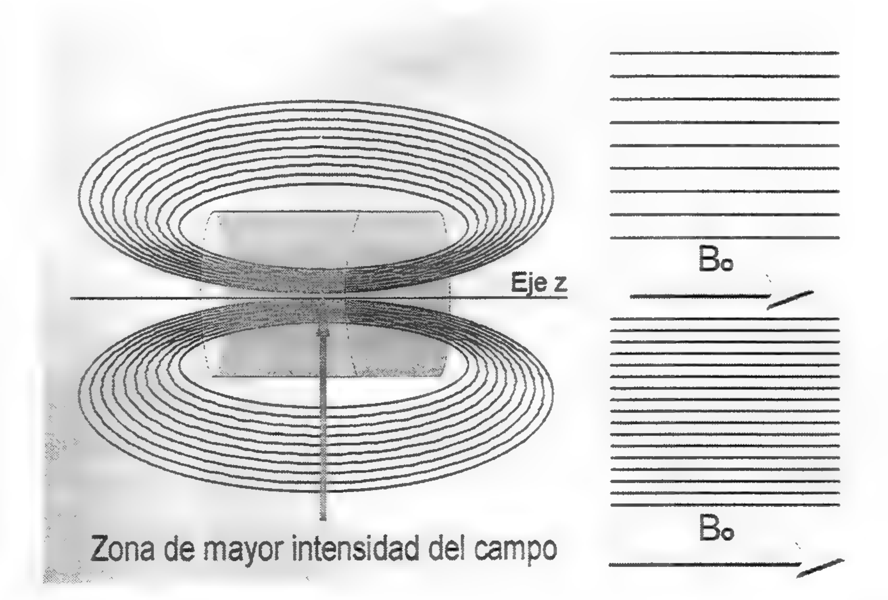
Los imanes permanentes no pueden competir en calidad de imagen con los superconductores, sin embargo tienen una serie de ventajas que hace que se sigan comercializando equipos de bajo campo. Al ser un imán abierto, al menos por un lateral, la sensación de claustrofobia del paciente se reduce mucho, permitiendo, además, la entrada de pacientes muy voluminosos. El campo magnético que rodea al equipo es también muy bajo, por lo que es fácil apantallarlo, y ubicar el equipo en espacios reducidos. Asimismo es posible la introducción de aparatos de monitorización, respiradores, etc. sin que sufran daños.





Creamos un campo magnético

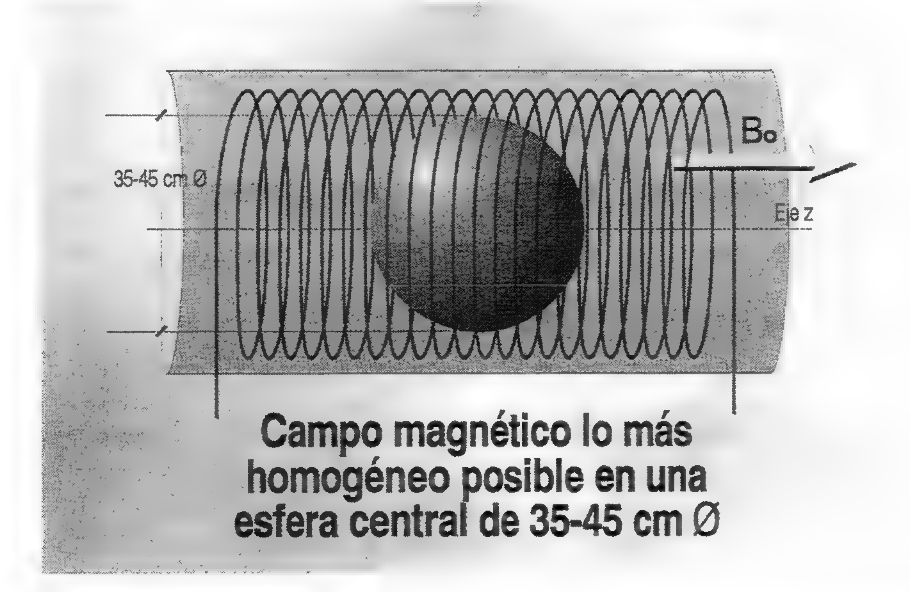
Los imanes superconductores consisten básicamente en una bobina o solenoide, a través de la cual se hace pasar una corriente eléctrica, produciéndose un campo magnético. El solenoide forma un túnel de mayor o menor longitud, en el que algunos pacientes sufren de claustrofobia.



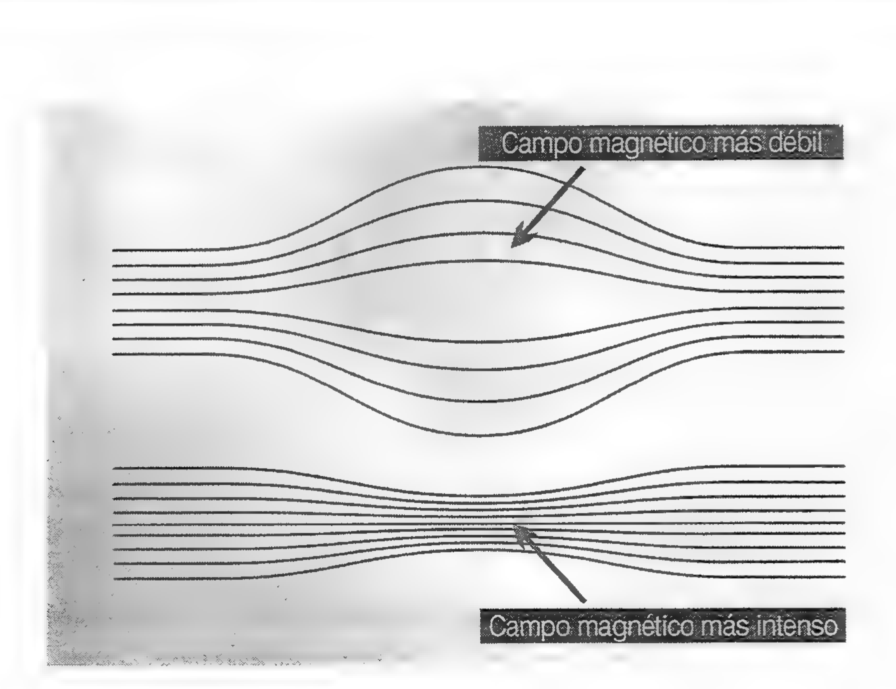
Zona de mayor intensidad del campo

Las líneas del campo magnético son siempre cerradas y siguen el recorrido que se indica en la figura. Cuando las líneas se dibujan mas juntas, quiere decir que que la intensidad del campo magnético es mayor. La máxima intensidad se consigue dentro del túnel, concretamente a lo largo del eje del cilindro.

El campo magnético fuera del imán o *fringe field*, pierde intensidad rápidamente gracias a los apantallamientos magnéticos que incorporan las máquinas.

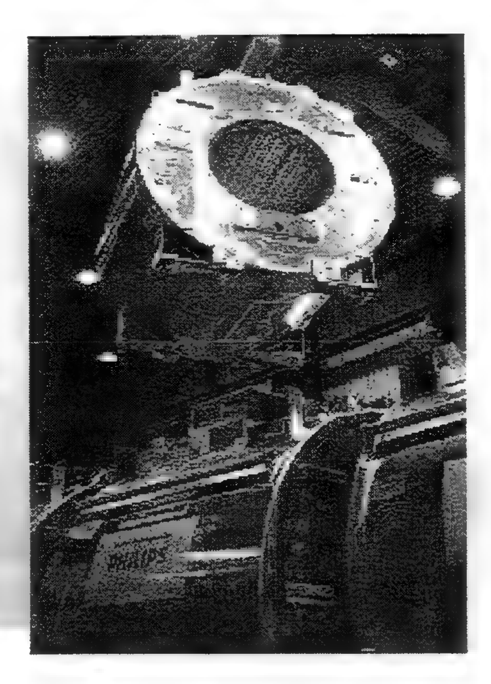


La máxima homogeneidad de campo magnético se consigue en una esfera imaginaria situada en el centro del túnel (isocentro). La homogeneidad se mide en partes por millón (ppm). En un imán de 1T con una homogeneidad de 1ppm en una esfera central de 20 cm, dos puntos situados a menos de 10 cm del isocentro no pueden diferir en mas de 0,000001T. Obviamente, es mayor una homogeneidad de 1ppm en una esfera de 50 cm que en una de 20 cm de diámetro.



En este dibujo se representan de forma esquemática las heterogeneidades del campo magnético. En la parte superior la separación de las líneas en una zona del campo magnético indica que éste es más débil. En la parte inferior las líneas se juntan y significa el campo magnético más intenso. La consecuencia es que la frecuencia de Larmor de los protones varía ligeramente entre diferentes zonas de un volumen.

Cualquier partícula metálica, sea o no ferromagnética, desvía las líneas de campo que pasan por su entorno, haciendo que el campo sea mas heterogéneo. El resultado son zonas de gran distorsión en la imagen.



Los imanes superconductores son un tipo de electroimanes que no necesitan alimentación eléctrica (estar enchufados a la corriente) para su funcionamiento. El solenoide es de un material superconductor, que es capaz de conducir la corriente eléctrica sin ofrecer resistencia a su temperatura de superconductividad (aprox. -270º C).

Se conecta la alimentación de corriente durante algunas horas y, cuando el imán está cargado, se desconecta. Ya está preparado para su funcionamiento normal.

IMÁN SUPERCONDUCTIVO



0,35 T $<$ Campo magnético B_0 $<$ 2 T

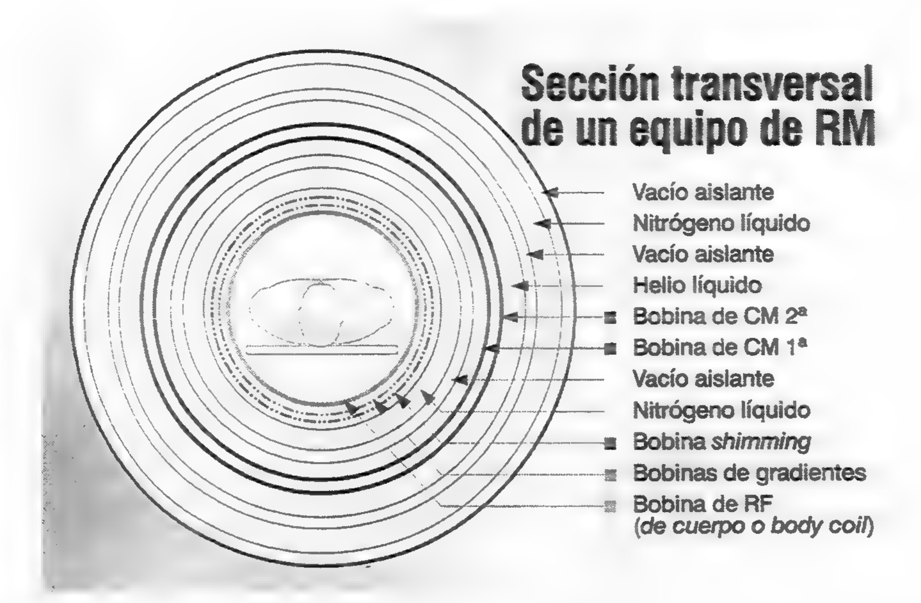
Ventajas

- **Alta relación S/R y homogeneidad**
- **Métodos de imagen modernos fácilmente implementables**
- **Espectroscopía**

Inconvenientes

- **Más caros de adquisición y mantenimiento**
- **Habitáculo especial**
- **Túneles mayores: mayor posibilidad de claustrofobia**

Los imanes superconductores son los que se montan en la mayoría de las máquinas de resonancia. El campo que se consigue con ellos es siempre mucho más alto que el de cualquier imán permanente, pero a cambio necesitan mantenimiento: relleno periódico de criógenos (nitrógeno y helio líquidos), que son bastante caros.



En este corte esquemático de un imán superconductor se pueden observar los diferentes componentes en forma de capas. La bobina del imán (la que produce el campo magnético) está inmersa en helio líquido, y rodeada por dos capas de vacío que actúan como aislante térmico. A su vez están rodeadas por una capa de nitrógeno líquido. Más internamente se sitúan las bobinas que crean los gradientes de campo magnético, las bobinas de ajuste o de *shimming*, y la bobina receptora-transmisora denominada antena de cuerpo o *body coil*.



Un ***quench*** (extinción en inglés) es una situación siempre indeseable en un equipo de resonancia. Se trata de una extinción brusca del campo por pérdida súbita de la superconductividad debida a un aumento de la temperatura en el imán. Cuando por cualquier circunstancia la temperatura supera el umbral de la superconductividad, el imán comienza a ofrecer resistencia al paso de la corriente. El imán se calienta y se alcanza un nivel de calor, que provoca una evaporación explosiva de los criógenos. El helio, por ser mas ligero que el aire, debe escapar hacia el exterior, formando grandes nubes de vapor ascendente. El N es más pesado que el aire y permanece en el suelo. Ambos gases no son venenosos, pero sí letales al desplazar el aire y provocar la hipoxia y muerte en pocos minutos. Los equipos tienen una salida al exterior para la evacuación de los gases.





El término inglés *shimming* se refiere a los ajustes que se realizan en el equipo para mejorar la homogeneidad del campo magnético. El *shimming* puede ser activo o pasivo.

Las heterogeneidades del campo magnético afectan negativamente, muy especialmente a técnicas como las secuencias de eco de gradiente, supresión espectral de grasa, o espectroscopía.

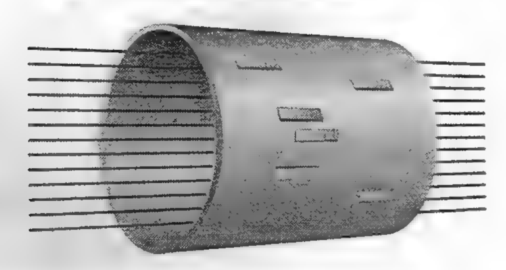


Shimming activo en un imán superconductivo

El operario está realizando un shimming activo en un imán superconductivo.

Shimming Pasivo

- Mediante pequeñas piezas de hierro
- En barras extraíbles
- Proceso lento y difícil (la colocación requiere muchas pruebas
- No precisa mantenimiento



El *shimming* pasivo se hace cuando se instala el imán. Se mide la intensidad del campo en todos los puntos del túnel, y mediante un programa de ordenador se calcula cuánto hierro hay que añadir para "rectificar" las líneas de campo y mejorar la homogeneidad en lo posible. Este tipo de *shimming* se suele combinar con un *shimming* activo.

Shimming Activo

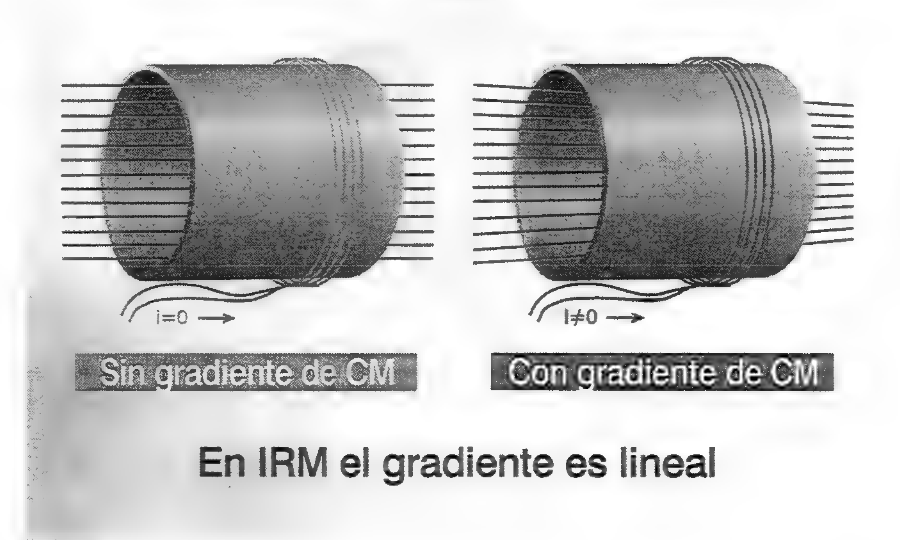
- Más de 30 bobinas situadas en el interior del orificio del imán
- Manejo computerizado del ajuste de cada bobina
- Fácil de activar. Incluso activación automática
- Caro: requiere componentes electrónicos y software



El *shimming* activo se realiza activando una serie de bobinas que están ubicadas en el interior del túnel. Este tipo de homogeneización se puede efectuar antes de una exploración. Técnicas como la espectroscopía necesitan un ajuste muy fino de la homogeneidad del campo y exigen efectuar un *shimming* antes de lanzar cada secuencia.

Debido a la cantidad de bobinas y a los elementos informáticos necesarios para su manejo, este tipo de *shimming* es más caro que el sistema de *shimming* pasivo.

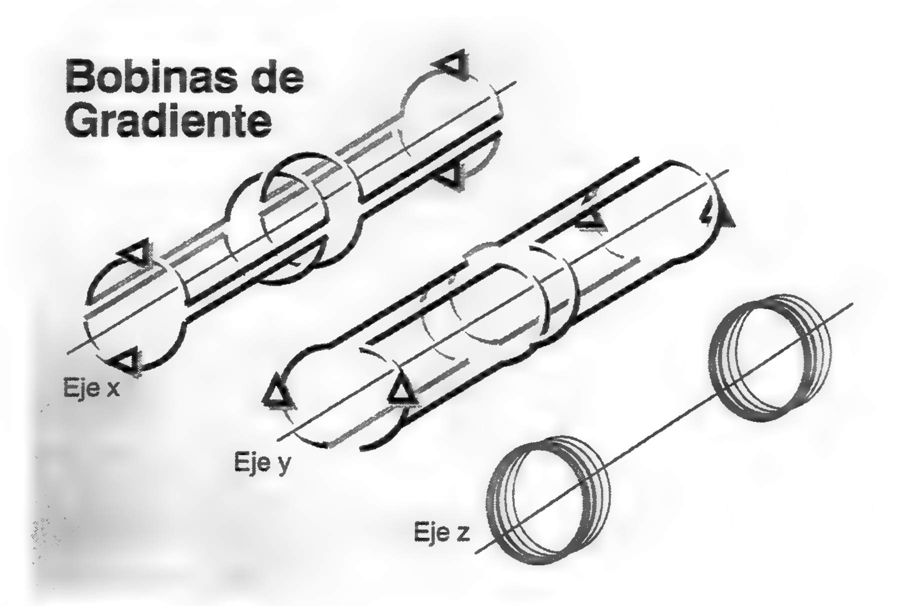




En IRM el gradiente es lineal

Un gradiente es una variación de una magnitud escalar a lo largo de una distancia. En RM, un gradiente es una variación del CM en una determinada distancia. Los gradientes se crean activando una bobinas incluidas en el túnel del imán. El campo magnético que produce esta bobina se suma al campo magnético principal y el resultado es un campo magnético diferente en cada punto. La variación del campo es siempre lineal, y se puede efectuar en cualquier dirección del espacio dentro del imán. Los gradientes son necesarios para la localización espacial de la señal de resonancia (selección de corte, codificación de fase y codificación de frecuencia), así como para la adquisición de los ecos en determinadas secuencias.

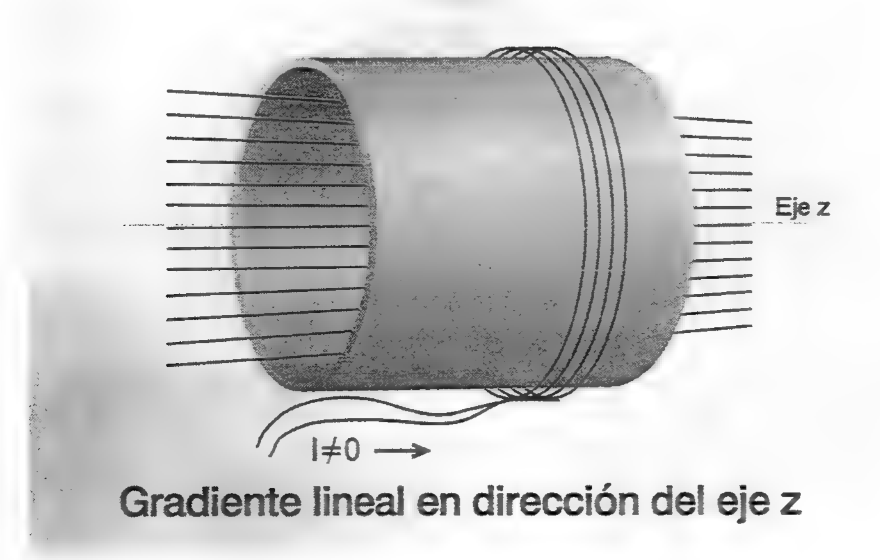
Bobinas de Gradiente



Las bobinas de gradientes tienen esta compleja forma. Cada bobina está orientada en una dirección del espacio. Su activación combinada y la dirección de la corriente produce gradientes en cualquier dirección del espacio. Esta combinación es la que permite obtener planos tomográficos en cualquier dirección del espacio. La intensidad del gradiente depende de la corriente que se envíe a cada una de las bobinas.

En color amarillo se representan las bobinas que combinan los ejes X e Y. En rojo las bobinas del eje Z.

En la realidad los tres grupos de bobinas que se muestran están superpuestas, y no separadas como se representan en la figura.



Gradiente lineal en dirección del eje z

La linealidad de los gradientes es un concepto paralelo al de la homogeneidad del campo. La linealidad asegura que la variación del campo magnético sigue una pauta controlada y que es posible determinar la posición de un vóxel conociendo a qué frecuencia están precesando sus protones.

En este ejemplo esquemático y elemental, la variación del campo magnético se ha efectuado a lo largo del eje z. El campo es más intenso en el extremo derecho del túnel.

GRADIENTE

Variación del CM a lo largo de una determinada distancia

UNIDADES DE MEDIDA DEL GRADIENTE

miliTESLA/m (mT/m)

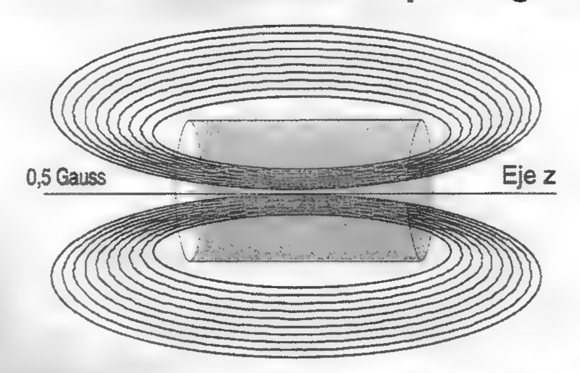
GAUSS/m (G/m)

Equivalencia: 1 mT/m = 10 G/m

Los gradientes de campo son variaciones del campo magnético a lo largo de una determinada distancia. La unidad de medida que se emplea es el militesla/metro (mT/m). La intensidad de los gradientes condiciona muchas de las técnicas más modernas, como por ejemplo las imágenes de difusión (DWI). Los valores que se utilizan en los equipos comerciales pueden variar entre los 10 mT/m y los 40 mT/m.

Otro parámetro es el tiempo de subida del gradiente o *rise time*. Es el tiempo que tarda el gradiente en alcanzar el valor deseado. Un ascenso rápido es necesario para las secuencias rápidas, sobre todo en secuencias eco-planares y técnicas angiográficas. En estos casos se precisan tiempos de subida menores de 0,2 ms.

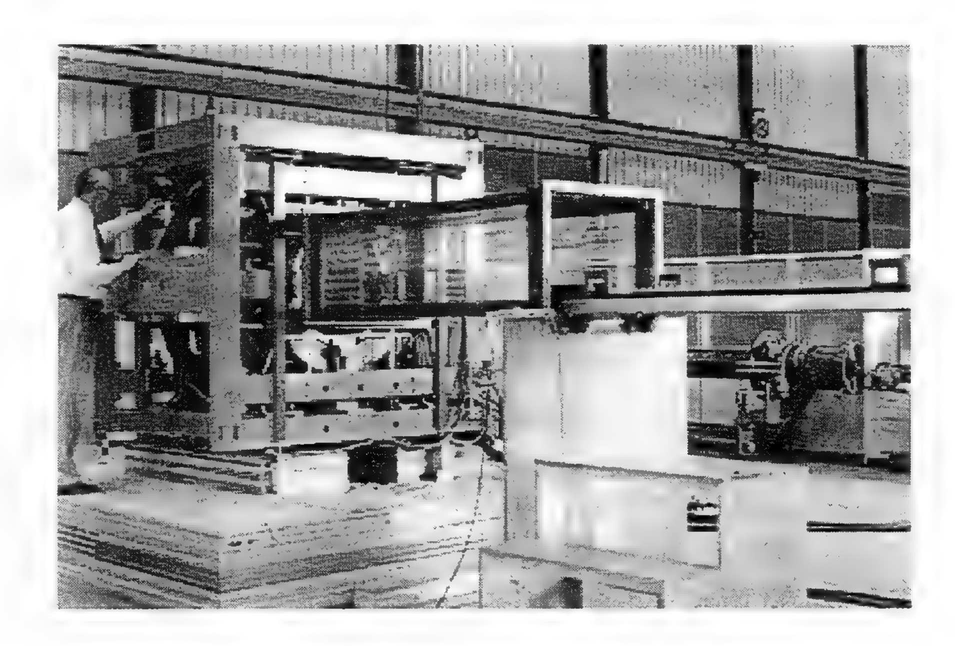
Zona de influencia del campo magnético



Puede afectar a Marcapasos, Tarjetas de Crédito, Aparatos Electrónicos, etc ...

El denominado *fringe field* es el campo magnético que existe en la sala de exploración , fuera del imán. En la figura se representa en color ocre. Su contorno externo delimita la zona de 0,5 Gauss (que corresponde a la intensidad del CM terrestre).

La forma e intensidad de este campo se pueden modular con unas antenas situadas en el *gantry*, por fuera del bobinado del imán. Se denominan antenas de apantallamiento o *shielding coils*. Este *fringe field* tiene que estar bien delimitado pues el campo magnético puede afectar a elementos ferromagnéticos, electrónicos, etc..



Prototipo de imán de RM, construido en 1982.

Shielding Pasivo

- Estructura de hierro que rodea al imán
- Barras de hierro
- Favorece la heterogeneidad del Campo Magnético principal
- Complica el *Shimming*

La reducción del campo magnético externo al imán mediante apantallamiento puede ser activa o pasiva.

El sistema pasivo, mediante una estructura de hierro que rodea al imán, es más sencillo y barato, pero el metal ferromagnético del que esta compuesto tiene la contrapartida de "estropear" la homogeneidad del campo magnético del imán (B_0).

Shielding Activo

- Segunda bobina superconductiva (bobina secundaria) por fuera de la bobina principal
- Corriente en sentido opuesto
- Los Campos Magnéticos se restan
- Externamente predomina el Campo magnético de la segunda bobina
- Internamente predomina el Campo Magnético de la bobina principal

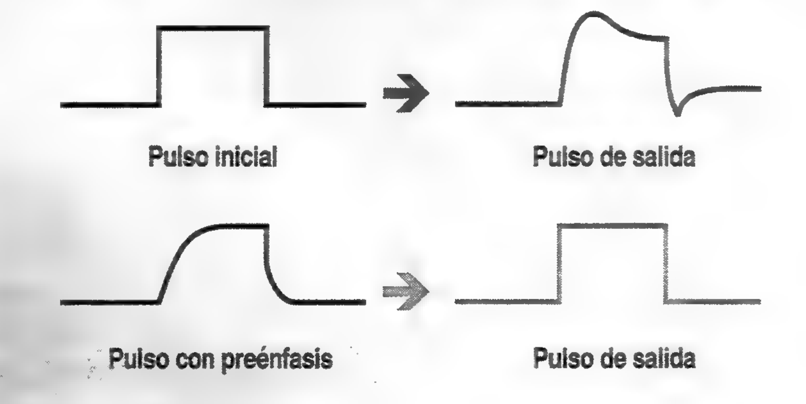
El apantallamiento activo se efectúa activando unas bobinas adicionales, situadas externamente a la del campo magnético principal. El campo magnético externo se contrarresta produciendo un campo opuesto a B_0.

Corrientes eddy

- Corrientes eléctricas inducidas por CM variables
- Producen artefactos (alteraciones en la imagen), como:
  - Emborronamientos
  - Desplazamientos espaciales

Las corrientes *"eddy"* (significa remolino, en inglés) son corrientes eléctricas inducidas en un conductor por campos magnéticos variables. Estas corrientes se inducen en el paciente, en los cables y en el sistema del imán. La activación y conmutación rápida de los gradientes, como en las secuencias rápidas, es la fuente principal de estas corrientes. Estas producen diversos artefactos en la imagen, como emborronamiento o desplazamiento espacial.

Compensación de Corrientes eddy



Sin compensación de corrientes *eddy*, los pulsos de corriente que se envían para la activación de los gradientes se distorsionarían, y por lo tanto los gradientes no serían los requeridos, produciendo artefactos como se ha mencionado anteriormente.

Un método para compensar, que no eliminar, las corrientes *eddy* es la utilización de pulsos de corriente con una forma tal que, sumados a las corrientes *eddy* produzcan un pulso de corriente de la forma deseada.

Parte II

Susceptibilidad Magnética

Capacidad de magnetización de una sustancia en un CM

Clasificación de las sustancias

Paramagnéticas

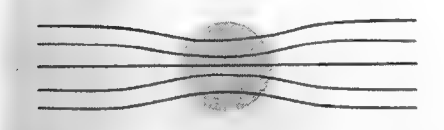
Diamagnéticas

Ferromagnéticas

La capacidad de magnetización de una sustancia cuando se somete a un campo magnético se denomina susceptibilidad magnética. Existe tres tipos de materiales en cuanto a su susceptibilidad magnética: las sustancias diamagnéticas, las ferromagnéticas y las paramagnéticas.

Paramagnéticas

Sustancias que son atraídas débilmente hacia la zona más intensa del CM



Tienen electrones no pareados en sus órbitas de valencia

Las sustancias paramagnéticas presentan una susceptibilidad magnética ligeramente positiva (>0), y son atraídos ligeramente por el campo magnético. El oxígeno e iones de algunos metales (como por ejemplo Mg, Gd) son paramagnéticos. La causa es la existencia de electrones no pareados en las capas más externas.

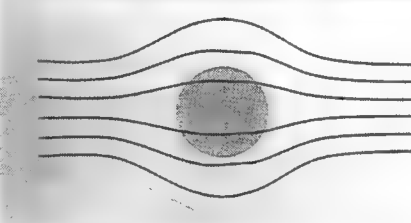
En IRM se utiliza alguna de estas sustancias, como los compuestos de gadolinio, como medio de contraste, acortando los tiempos de relajación T1 y T2.

Las sustancias superparamagnéticas tienen una susceptibilidad magnética intermedia entre el paramagnetismo y el ferromagnetismo.



Sustancias que son repelidas débilmente por el CM

Habitualmente consideradas como no magnéticas

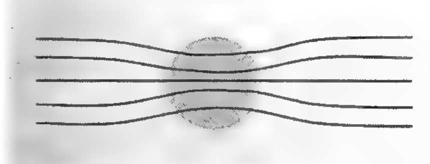


Las sustancias diamagnéticas y paramagnéticas incluyen solo átomos y moléculas

En las sustancias diamagnéticas la susceptibilidad magnética toma pequeños valores negativos (<0); quiere decir que son repelidas ligeramente por el campo magnético. Materiales de este tipo son el agua y el cobre, y la mayoría de los tejidos.

Ferromagnéticas

Sustancias que son atraídas fuertemente hacia la zona más intensa del CM



Mantienen la magnetización aún después de ser retiradas del campo magnético

Fe, Ni, Co

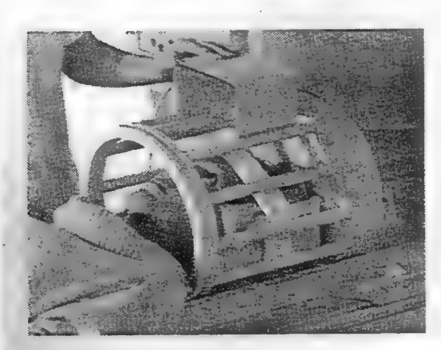
Los materiales ferromagnéticos como el Fe, Co Ni, tienen una gran susceptibilidad magnética (>>1), y son fuertemente atraídas por el campo magnético. Cuando se someten a un campo magnético la intensidad de éste es mucho mayor en el interior que en el exterior de la sustancia. Además, las sustancias ferromagnéticas permanecen magnetizadas aun fuera del campo magnético al que han sido sometidas.

En IRM los artefactos de susceptibilidad causados por estos materiales se caracterizan por una distorsión espacial y pérdida de señal (zona negra). Un pequeño fragmento metálico apenas visible por RX, puede artefactar notablemente la imagen, e incluso puede desplazarse al ser atraído fuertemente hacia la parte más intensa del campo.



Las antenas se utilizan para recoger la señal emitida por los tejidos. Ésta señal es muy débil, por lo que la elección de la antena o antenas más adecuada/s a cada caso es fundamental para obtener una buena imagen. Es también muy importante colocar la antena de manera que la zona a explorar quede completamente englobada en el área de recepción de la antena. La magnitud del FOV (*Field of View* o campo de exploración) influye en la resolución espacial de la imagen: hay que seleccionar el mínimo FOV que permita la antena y que a su vez abarque toda la zona a explorar para obtener la máxima resolución.

Una misma antena sirve para hacer imágenes de zonas diferentes





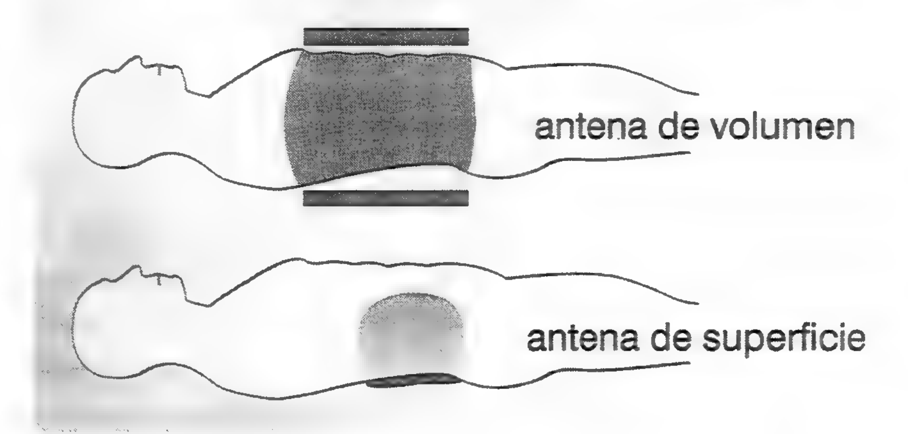
El FOV seleccionado debe ser como máximo igual que el diámetro de la antena si ésta es circular o que su largo (z) si no lo es, y como mínimo un 25% menor. Todos los equipos comerciales disponen de una serie de antenas optimizadas para diferentes regiones anatómicas. Cualquier antena sirve para estudiar una zona anatómica que cumpla la condición anterior, aunque el fabricante no la recomiende especialmente para ello. Esto es tremendamente útil para estudios pediátricos cuando sólo se dispone de antenas para adultos.

TIPOS DE ANTENAS

- Antenas de Transmisión
- Antenas de Recepción
- Antenas de Transmisión-Recepción

En las máquinas de resonancia se montan antenas de tres tipos: las **antenas de transmisión**, que se utilizan para enviar los pulsos de RF que excitan la muestra, las **antenas de recepción**, que captan la señal que emite la muestra y las **antenas de transmisión-recepción**, que son capaces tanto de emitir pulsos de RF como de recoger la señal emitida. Éstas últimas se emplean para propósitos especiales como la espectroscopia, donde la eficacia de la transmisión de la RF tiene que ser máxima. La antena de transmisión-recepción que tienen los equipos clínicos es la de cuerpo (*body coil*), que está integrada en el túnel; en algunos casos también la antena de craneo es de este tipo.

FORMAS DE ANTENAS



Las antenas pueden tener dos formas: volumen o superficie. Las **antenas de volumen** proporcionan una imagen con **intensidad homogénea** en todo el corte. Pueden ser lineales o de cuadratura. Suelen ser antenas rígidas, no fáciles de colocar en pacientes muy voluminosos o con monitorizaciones, goteros, etc.

Las **antenas de superficie** ofrecen un patrón de **intensidades decreciente** según aumenta la distancia a la antena. Pueden ser lineales, de cuadratura o multielemento. Generalmente son antenas flexibles que se adaptan al perfil del paciente.

La forma de la antena no afecta directamente ni al tiempo de exploración, ni a la resolución espacial, ni al contraste de la imagen

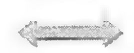


La potencia de penetración de una antena de superficie es aproximadamente 2/3 de su diámetro. Si la profundidad de la zona de interés es grande hay que utilizar una antena de superficie grande o una antena de volumen o envolvente, si están disponibles.

La parte en contacto con la antena, generalmente grasa superficial, tiene un brillo excesivo que puede restar intensidad a las estructuras de la zona de interés.

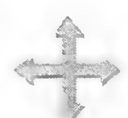
TECNOLOGÍA DE ANTENAS

antena lineal



- detecta señal en una sola dirección

antena de cuadratura

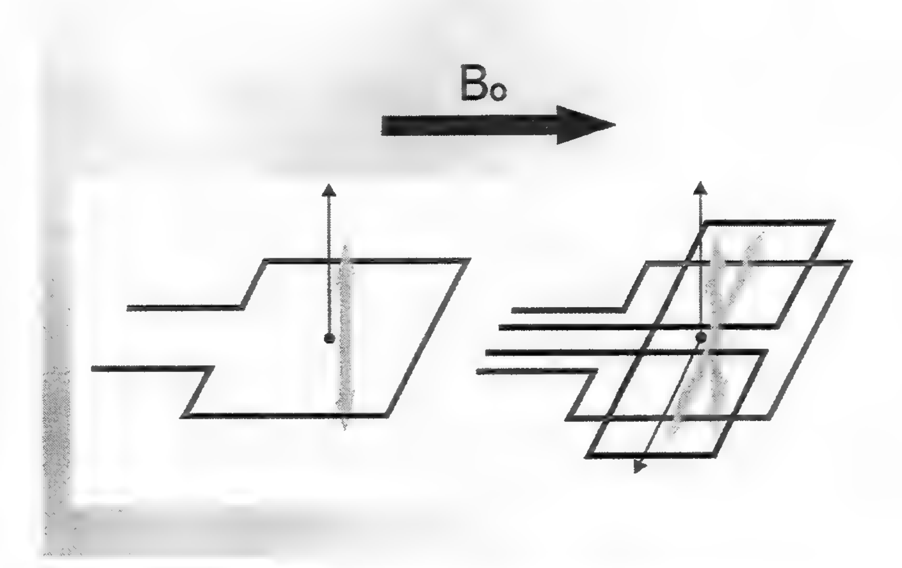


- detecta señal en dos direcciones ortogonales
- la relación S/R mejora en un 40% aproximadamente

Las antenas lineales o linealmente polarizadas transmiten y reciben la radiación electromagnética a lo largo de un solo eje. Este diseño es fácil de construir pero es ineficiente a la hora de transmitir y no es capaz de extraer toda la información de la señal recibida.

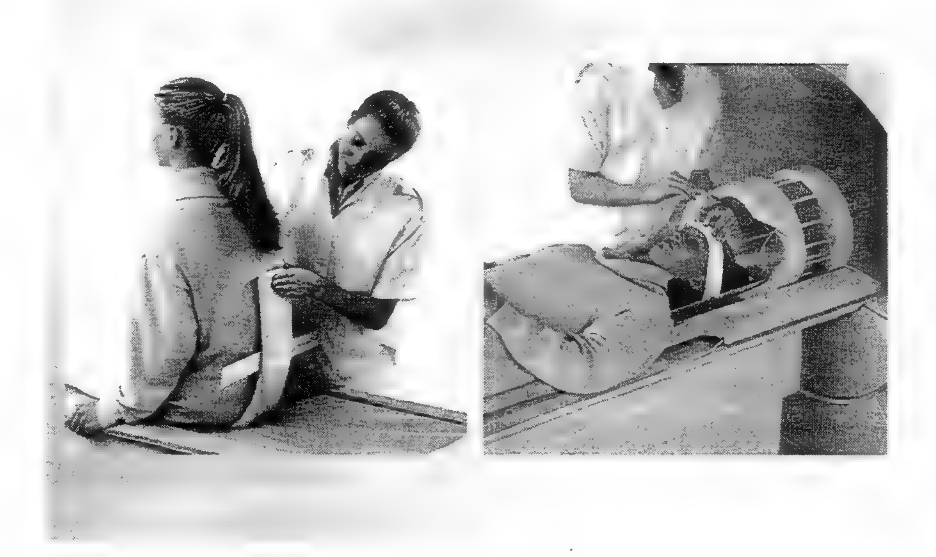
Las antenas de cuadratura o circularmente polarizadas reciben la señal por dos canales: el real y el imaginario, así la localización espacial de la magnetización se detecta de manera inequívoca. Además, al recibir dos señales independientes, la relación señal-ruido (S/R) aumenta en un factor $2^{1/2}$





En la parte izquierda se representa una antena lineal. Es importante no colocar la antena con su eje en la misma dirección que el campo magnético principal, porque la antena quedaría saturada y no detectaría la débil señal proveniente de los tejidos.

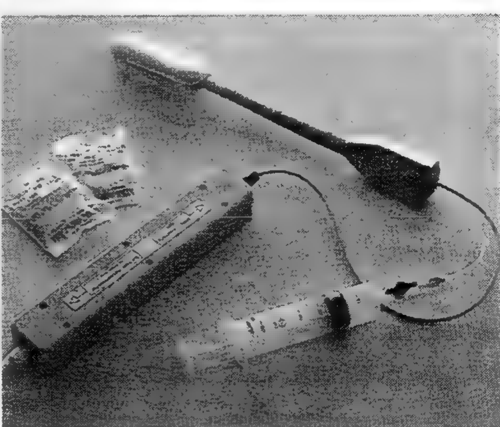
Las antenas de cuadratura (esquema de la derecha), en general van montadas sobre soportes que no permiten orientarlas en cualquier dirección. Así se garantiza que no tienen sus ejes de detección paralelos al campo B_0.



En la fotografía de la izquierda se muestra una antena de superficie, lineal, diseñada para el estudio de zonas alargadas como columna, brazo o pantorrilla. El FOV apropiada para esta antena debe ser también alargado; utilizada como antena de columna sólo es eficaz para realizar cortes sagitales.

En la fotografía de la derecha se observa una antena de volumen y de cuadratura. Es una antena diseñada para hacer imagen de cuello o de columna cervical. Este tipo de antenas rígidas no es tan versátil como el de las antenas flexibles



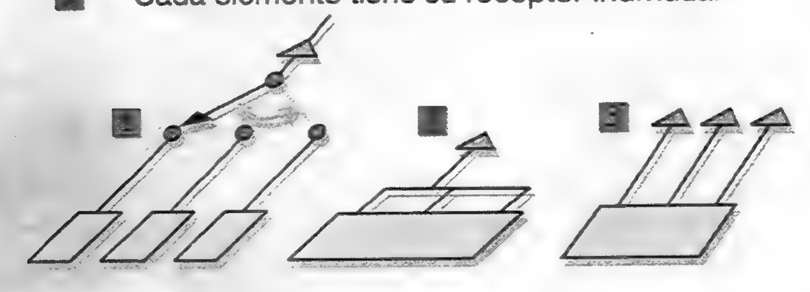


En la mayoría de los equipos es posible conectar varias antenas al mismo tiempo. En la fotografía de la izquierda han colocado al mismo tiempo una antena de cuadratura (y de volumen) y una antena lineal de superficie, para poder hacer imágenes de ambas rodillas sin necesidad de mover al paciente. NO SE PUEDE HACER IMAGEN DE AMBAS RODILLAS AL MISMO TIEMPO.

A la derecha se puede ver una antena endocavitaria diseñada para hacer imagen de próstata o de colon. Es una antena de superficie que permite utlizar FOVs muy pequeños debido a su reducido tamaño.

Tecnología de Múltiples Antenas o Elementos

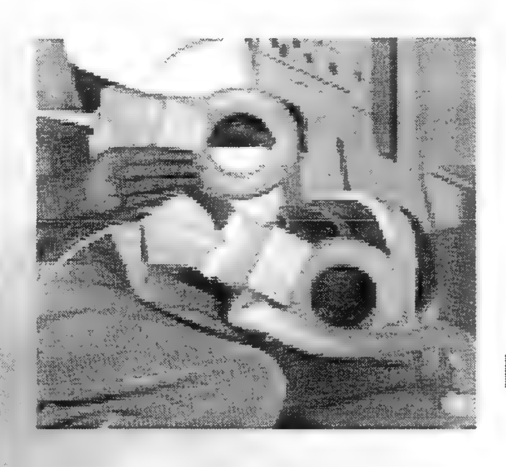
- Varias antenas
- Elementos encadenados como una única antena
- Cada elemento tiene su receptor individual



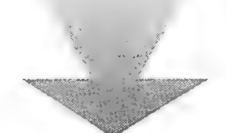
La combinación de varias antenas (1) se utiliza cuando se quieren hacer paquetes de cortes en zonas diferentes. Un caso usual es utilizar pequeñas antenas de superficie para ambas articulaciones temporomandibulares. se consigue así un FOV más pequeño que con una única antena que cubra ambas articulaciones.

Una antena de varios elementos (2) con un único receptor consigue FOVs grandes a costa de una baja relación señal-ruido.

La antena de múltiples elementos con receptores individuales (3) se denomina antena phased array o synergy



Antena Pequeña



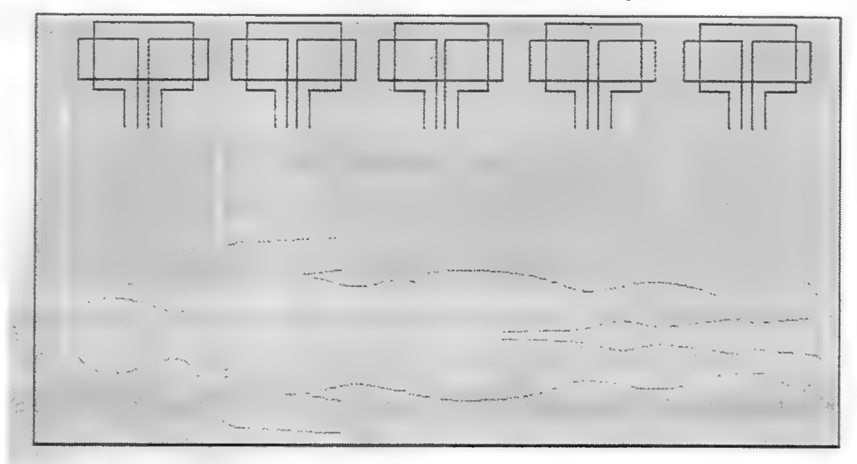
Mayor Resolución Espacial

En esta fotografía se ilustra el montaje para colocar pequeñas antenas de superficie en ambas articulaciones temporomandibulares. Con estas antenas se consigue un FOV comparable a su diámetro, que siempre será menor que el mínimo FOV conseguible con una antena de cráneo.

La resolución espacial será mejor con las antenas circulares de superficie que con una antena de cuadratura de mayor tamaño como puede ser la de cráneo.

Este ejemplo sirve para desmentir la idea de que siempre es mejor utilizar una antena de cuadratura que una lineal, o una volumétrica en vez de una de superficie.

Antenas *Phased Array*



Las antenas *phased array* contienen varios elementos seleccionables según las necesidades de cobertura de la imagen, cada uno con su propio receptor individual. La detección se hace con cada elemento por separado y, después de la reconstrucción, se suman todas las imágenes individuales, dando como resultado una imagen de FOV grande con la relación señal-ruido de una antena pequeña.

La resolución espacial con estas antenas se aumenta incrementando la matriz de la imagen (256 ⇒ 512 ⇒ 1024), con la ventaja de no llegar a valores críticos de relación S/R y no tener que aumentar el número de adquisiciones (NSA o NEX), lo que supondría un incremento apreciable en el tiempo de adquisición.



El imán es uno de los componentes principales de un equipo de Resonancia Magnética (RM).

Son necesarias algunas nociones básicas de magnetismo, así como de los elementos constituyentes de un imán, sus características fundamentales, y de los diferentes tipos de imanes que se utilizan en los equipos de resonancia.

CAMPO MAGNETICO

Producido por cargas eléctricas en movimiento

UNIDADES DE MAGNETISMO

TESLA (T)

GAUSS (G)

El Campo Magnético (CM) se produce por el movimiento de cargas eléctricas.

En RM la unidad de medida del campo magnético es el Tesla (T). Otra unidad que se utiliza habitualmente para expresar la fuerza del campo magnético (B_0), es el gauss. En el ámbito de la RM se trabaja con campos potentes, por lo que que se maneja el Tesla (T). 1 Tesla = 10.000 Gauss.



1 TESLA = 10.000 GAUSS

CM terrestre = 0,5 Gauss

0,3 gauss en el ecuador / 0,7 gauss en los polos

Tomógrafos IRM ⟹ 0,0064 a 2 T

Un Tesla equivale a 10.000 Gauss.

El campo magnético terrestre tiene una intensidad media de 0,5 Gauss, con pequeñas variaciones desde los polos al ecuador.

El CM utilizado en IRM puede variar de 0,0064 T hasta 2 T. Los imanes más comunes en imagen clínica son los de 0,5, 1 y 1,5 T.

Clasificación de los equipos de RM según la intensidad del CM

Hasta 0,1 T	Ultra bajo
0,1 - 0,3 T	Bajo
0,4 - 1,0 T	Medio
1,0 - 2,0 T	Alto
> 2,0 T	Ultra alto

Los tomógrafos de IRM se pueden clasificar arbitrariamente según la intensidad del campo magnético.

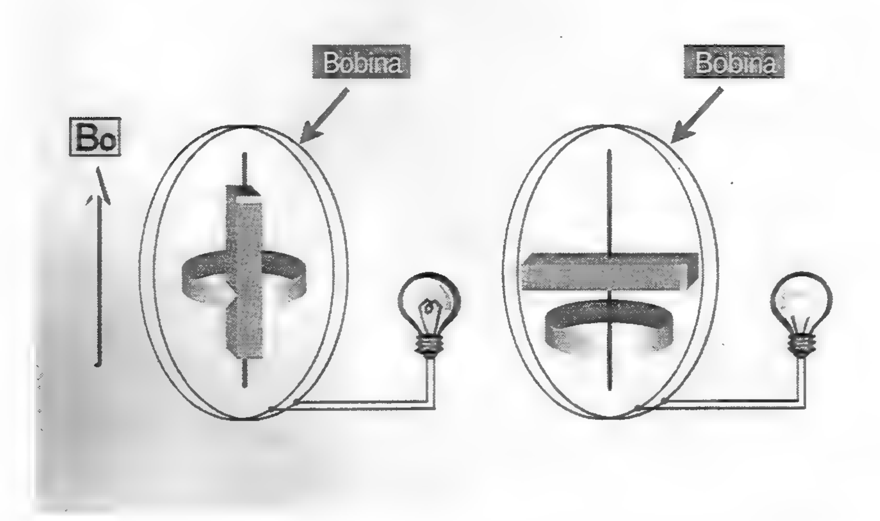
Los imanes que generan un campo magnético mayor de 2T no se utilizan generalmente en humanos. En experimentación animal sí es común encontrar imanes de hasta 7T.

95



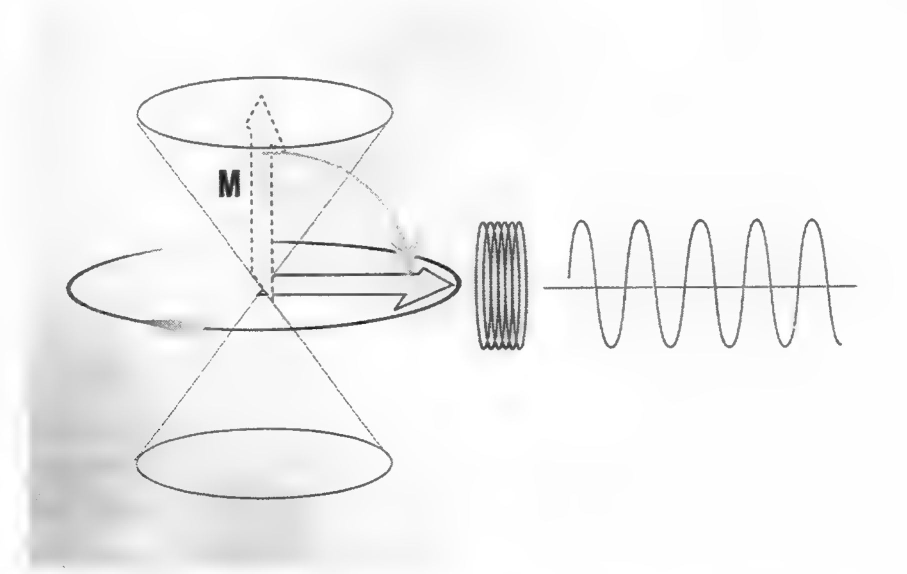
Parte III

Generación de la Señal de Resonancia



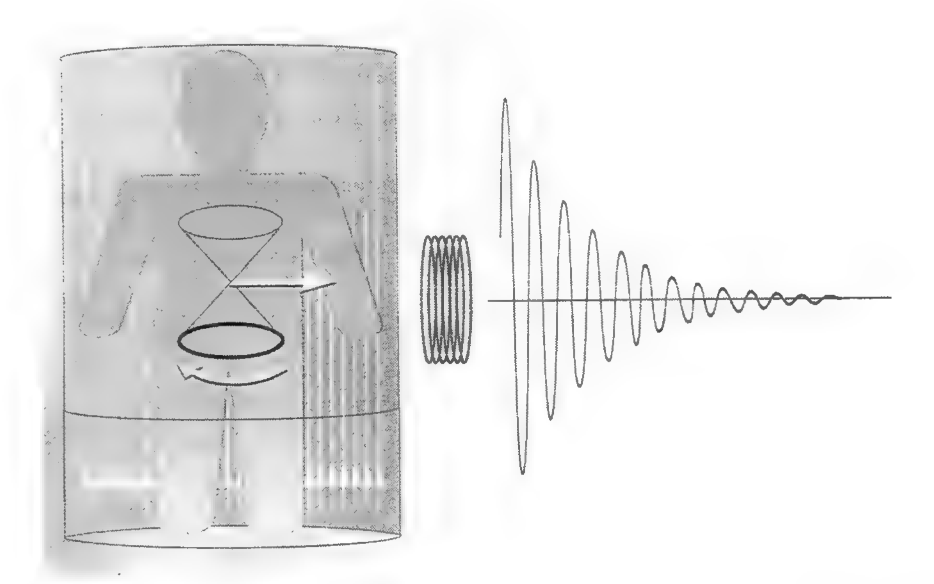
La generación de la señal de RM es similar a la generacion de corriente eléctrica en un alternador. El vector de magnetización neto, cuando está alineado con el campo magnético (paralelo a la bobina de recepción) no induce señal alguna sobre las bobinas. Cuando el vector se inclina al plano transversal XY, su precesión delante de una bobina genera una corriente eléctrica.

En esencia, para generar una señal de RM hay que inclinar el vector neto, en mayor o menor medida, al plano transversal.



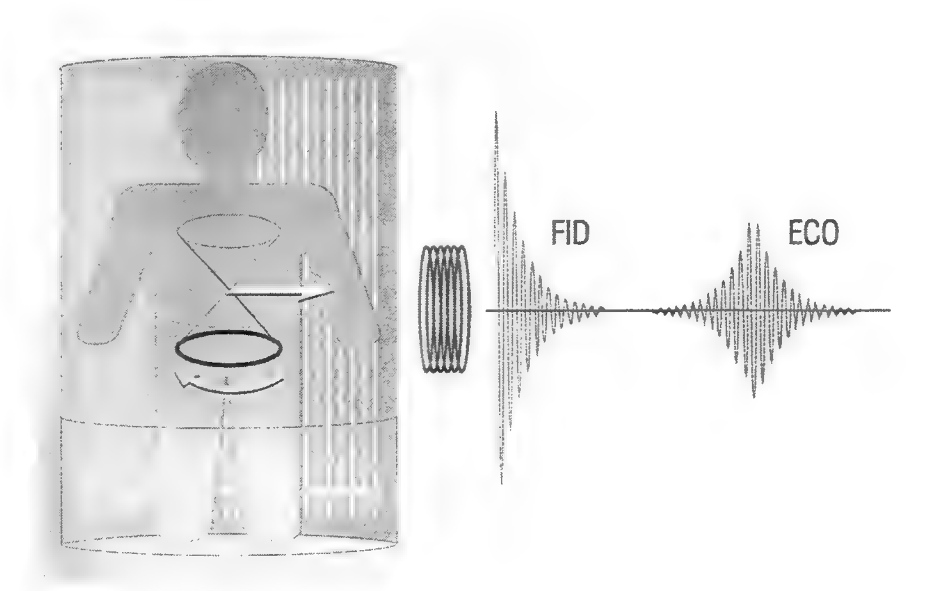
En este ejemplo el vector de magnetización M ha sido inclinado 90°. Posteriormente veremos qué mecanismo utilizamos para la inclinación del vector. Si el vector mantuviera su módulo (tamaño del vector) constante durante su giro o precesión, la señal generada sería una onda de amplitud constante como la que muestra la figura.

Parte III
GENERACIÓN DE LA SEÑAL DE RM



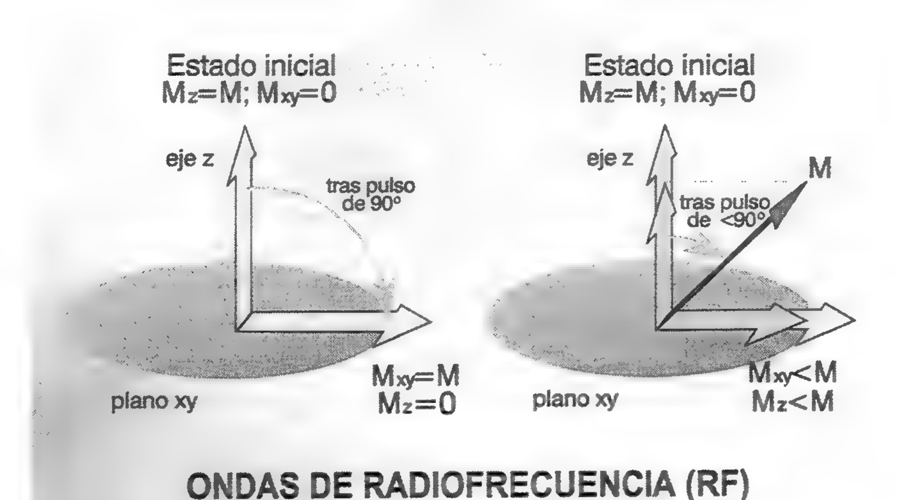
Sin embargo la señal decae muy rápidamente (en pocos ms), es decir, el vector se hace progresivamente menor, debido a que cada vez que pasa por delante de la bobina su módulo es menor. La señal generada es en realidad una onda amortiguada, su amplitud disminuye de forma exponencial hasta que finalmente desaparece. El tiempo que tarda en desaparecer depende de la relajación de los tejidos.

Esta señal generada por un solo pulso de excitación se denomina FID (*Free induction decay*), o caida de la inducción libre.



La imagen de RM no se forma de la FID, sino a partir de una segunda señal denominada eco, que se obtiene refasando la FID bien mediante pulsos de RF, bién mediante la aplicación de gradientes. Posteriormente se verá con más detalle el proceso de formación del eco.

Veamos a continuación, como se inclina el vector de magnetización M, y se forma la señal de RM.



ONDAS DE RADIOFRECUENCIA (RF)

Se considera Z como la dirección del campo magnético B_o, siendo x, y los ejes que definen el plano transversal. El vector se inclina al plano transversal mediante pulsos de radiofrecuencia (RF).

El vector M se puede expresar en función de sus componentes M_z (magnetización longitudinal), y M_{xy} (magnetización transversal). En estado de relajación el vector M solo tiene componente longitudinal (M_{xy}=0). Tras la aplicación de un pulso de RF, el vector se inclina sobre el plano xy, y aparece su componente transversal.

En el dibujo de la izquierda el vector ha sido inclinado 90°. En el de la derecha la inclinación ha sido menor de 90°. En este caso la componente horizontal es menor que en caso anterior. La señal de RM será menor.

ONDAS DEL ESPECTRO ELECTROMAGNÉTICO

	Energía (eV)		Frecuencia (Hz)	Long. (m)	
	10^{10}		10^{24}	10^{-16}	
	10^{9}		10^{23}	10^{-15}	
	10^{8}		10^{22}	10^{-14}	
	10^{7}		10^{21}	10^{-13}	**Rayos Gamma**
	10^{6}		10^{20}	10^{-12}	
	10^{5}		10^{19}	10^{-11}	
RX	10^{4}		10^{18}	10^{-10}	
Rayos X	10^{3}		10^{17}	10^{-9}	
	10^{2}		10^{16}	10^{-8}	
	10^{1}		10^{15}	10^{-7}	**RUV (Ultravioleta)**
	10^{0}		10^{14}	10^{-6}	**Luz visible**
	10^{-1}		10^{13}	10^{-5}	
	10^{-2}		10^{12}	10^{-4}	**IR (Infrarrojos)**
	10^{-3}		10^{11}	10^{-3}	
	10^{-4}		10^{10}	10^{-2}	**Microondas**
	10^{-5}		10^{9}	10^{-1}	
	10^{-6}		10^{8}	10^{0}	
	10^{-7}		10^{7}	10^{1}	
RM	10^{-8}	1 Mhz	10^{6}	10^{2}	
Resonancia	10^{-9}		10^{5}	10^{3}	
Magnética	10^{-10}		10^{4}	10^{4}	**Radio**
	10^{-11}		10^{3}	10^{5}	
	10^{-12}		10^{2}	10^{6}	

Las ondas de radio forman parte del espectro electromagnético. El espectro electromagnético clasifica las radiaciones en función de su frecuencia. Como puede verse, la energía de una emisión electromagnética es proporcional a su frecuencia. Los pulsos de RF empleados en los sistemas de resonancia para utilización clínica tienen frecuencias de hasta 64 MHz. (para B_o =1,5T), es decir, se encuentran en la zona denominada como ondas de radio. Su baja frecuencia y su baja energía hacen que su aplicación en la IRM sea inocua, al contrario que los RX que poseen una alta energía y pueden producir efectos biológicos adversos.

Efectos sobre los protones de hidrógeno



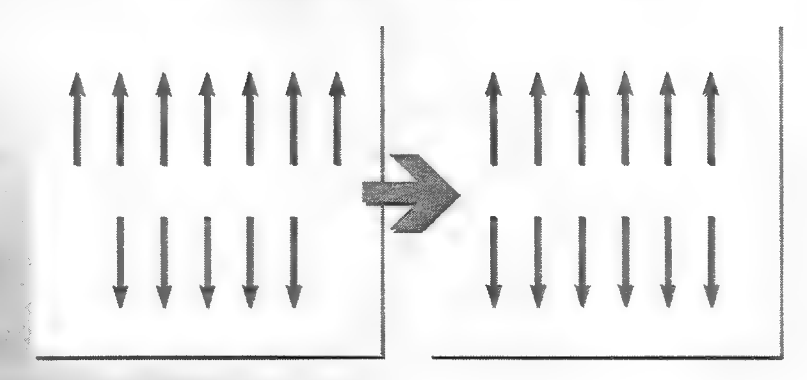
RADIOFRECUENCIA

Componente Ondulatorio	Componente Corpuscular
FRECUENCIA (Física clásica)	ENERGÍA: Fotones (Mecánica cuántica)

De una manera muy simple, para comprender los efectos de la RF sobre los protones de hidrógeno hay que considerar el componente ondulatorio de las ondas, según la física clásica, y el componente corpuscular según la mecánica cuántica. El componente ondulatorio trata de la frecuencia de las ondas, y el componente corpuscular de la energía de los fotones de las ondas.

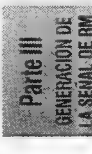
En general, el comportamiento de los protones debe ser descrito por medio de la mecánica cuántica. No obstante, si el número de éstos es suficientemente grande, como en la RM, se puede recurrir a la mecánica clásica, mucho mas intuitiva y perfectamente válida, para describir su comportamiento.

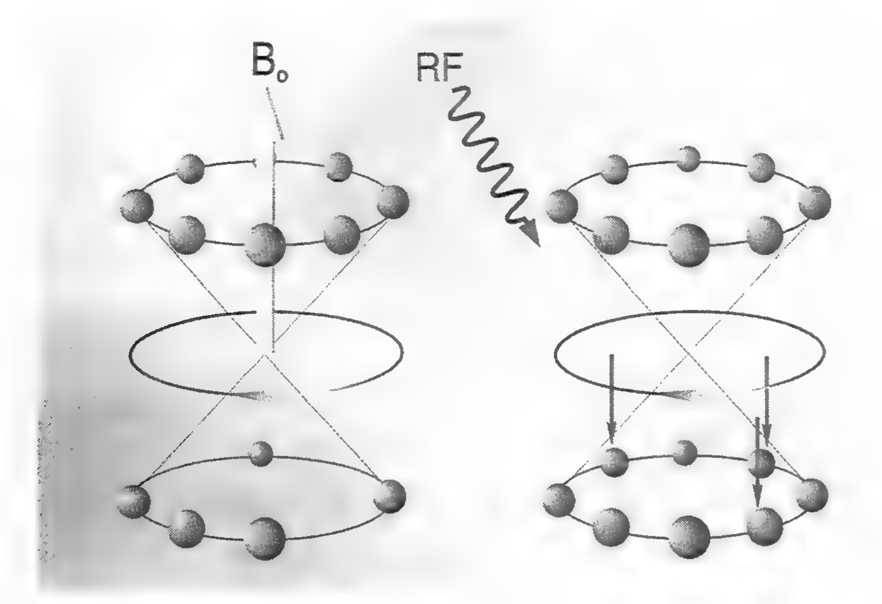
¿ CUANTA ENERGÍA ?



¿Cuanta energía hay que aplicar para inclinar el vector de magnetización neta al plano transversal?.

En principio, la RF debe tener la suficiente energía como para igualar paralelos y antiparalelos, o sea para añadir la diferencia de energía existente entre ambos niveles de energía. A la derecha vemos que se han igualado el número de paralelos y antiparalelos. En esta situación el vector de magnetización neto es 0.

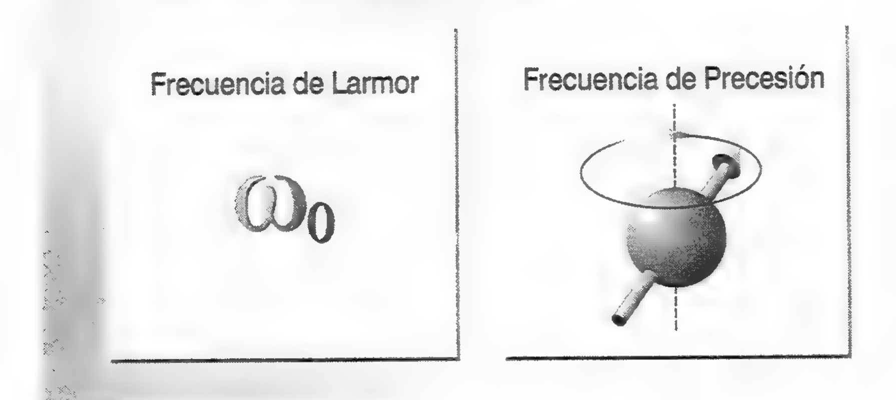




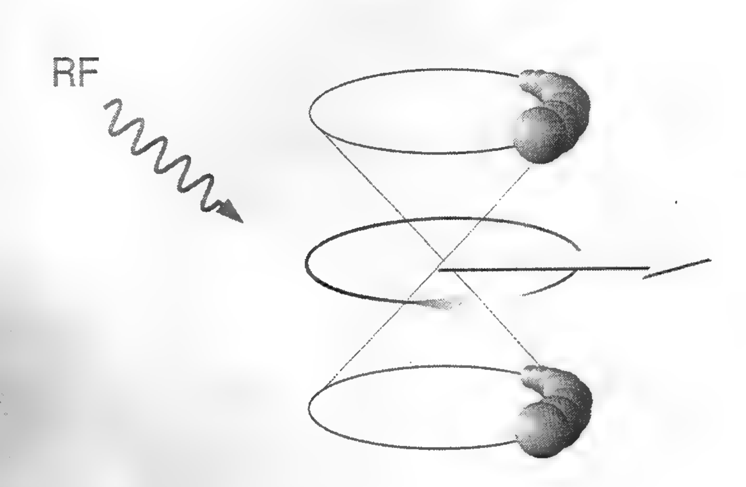
El aporte de energía hace que protones en estado paralelo pasen a antiparalelo. En este caso se igualan el número de protones paralelos y antiparalelos. El vector neto desaparece. Si la RF sólo actuara de esta manera desaparecería el vector.

La RF también actúa en su componente de frecuencia.

¿ CON QUÉ FRECUENCIA ?

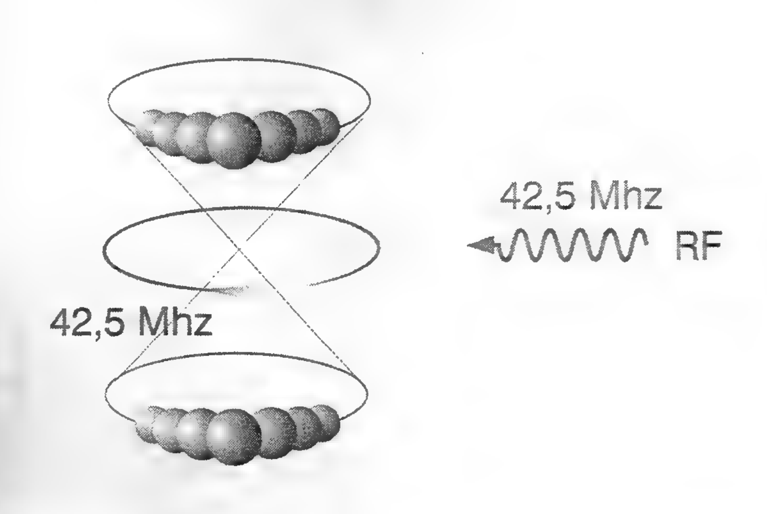


La frecuencia de la onda de radio debe tener la misma frecuencia que la frecuencia de precesión de los protones en ese campo magnético, o frecuencia de Larmor (ω_0). Recuerden que la frecuencia de precesión del ^1H es proporcional al campo magnético del imán (B_0). Las variaciones del CM, por muy pequeñas que sean, se traducen en variaciones de la frecuencia de precesión. Por eso el CM debe ser muy homogéneo, para asegurar que todos los protones de la muestra van a precesar a la misma frecuencia.



El pulso de RF tiene una frecuencia y una fase. Los protones de la muestra son capaces de "reconocer" ambas. La coincidencia de frecuencia y fase hace que los protones precesen en fase (en el dibujo los protones están "juntos").

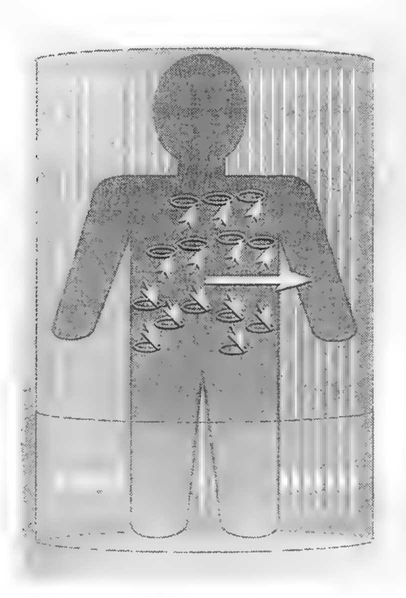
El resultado final es un vector neto en el plano transversal.Recuerden que, por lo tanto, para inclinar el vector neto, el vector de cada protón individual no cambia de posición. Simplemente se ha igualado el número de paralelos y antiparalelos, y se han puesto a precesar en fase.



Este proceso sucede si la frecuencia de la onda de radio coincide con la frecuencia de precesión. Esto es exactamente el fenómeno de la resonancia: la capacidad que tienen los protones de absorber energía, si se le envía a su frecuencia de resonancia.

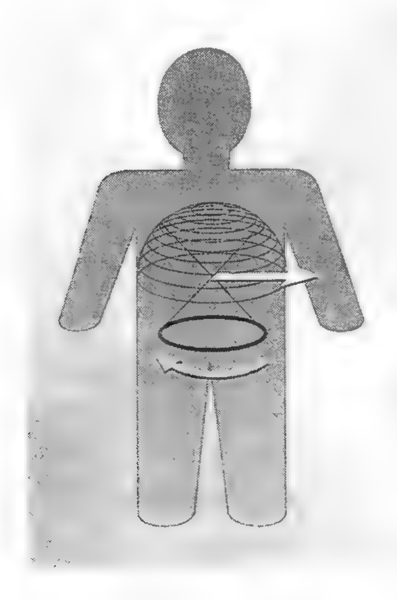
En un campo magnético de 1T, la frecuencia de precesión es de 42,5 Mhz.

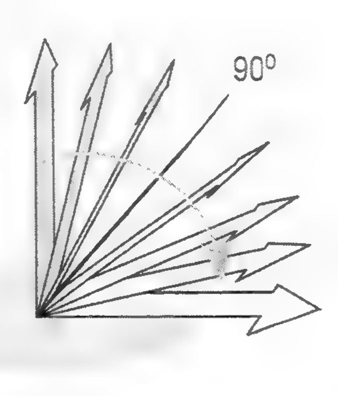




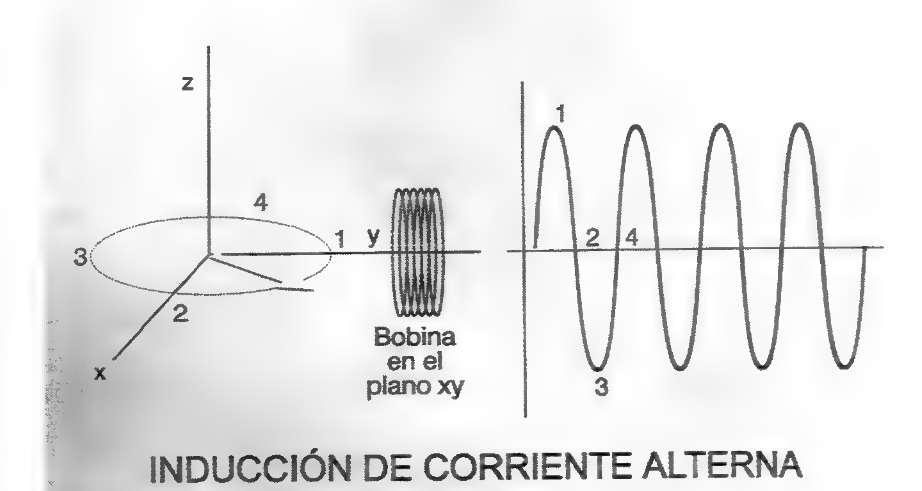


En el dibujo se representan todos los protones en fase, es decir, no solo precesan a la misma frecuencia, sino que su momento magnético apunta en la misma dirección. En este momento la magnetización longitudinal es 0.





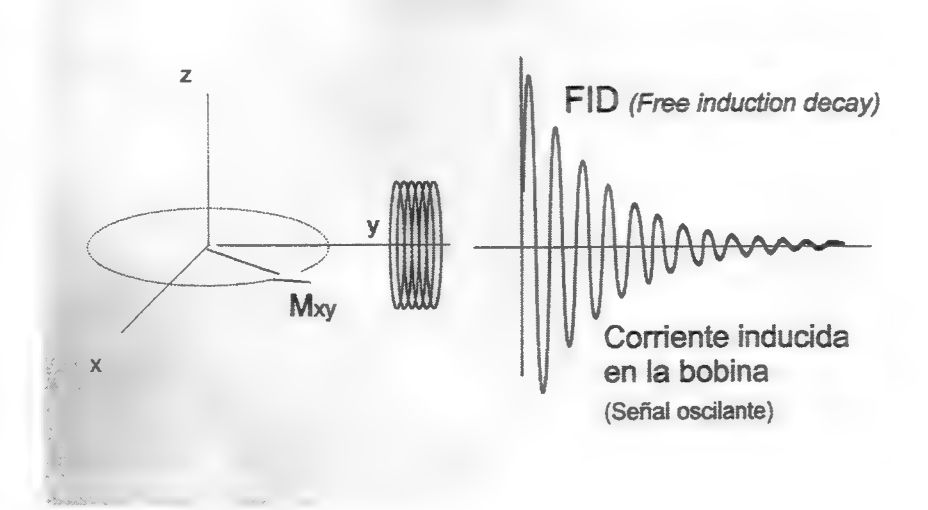
La inclinación del vector durante la aplicación del pulso de RF es progresiva, siguiendo la trayectoria circular que se muestra en el dibujo de la izquierda. Durante el proceso de inclinación el vector mantiene el mismo tamaño. El dibujo de la derecha muestra la inclinación progresiva del vector, prescindiendo del movimiento de giro o precesión.



La precesión del vector en un plano perpendicular a una bobina de recepción situada lateralmente induce una corriente alterna. Podriamos decir que el paciente se comporta como un alternador.

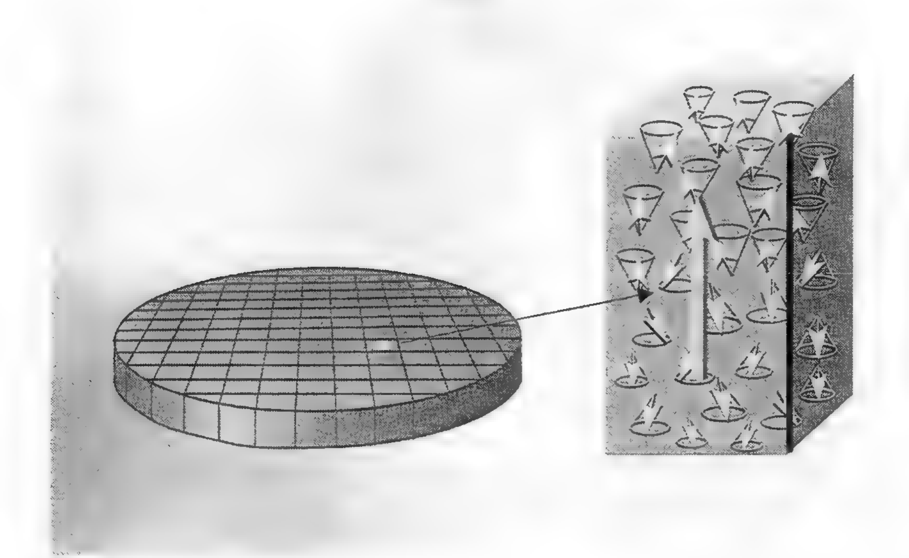
En la onda oscilante a la derecha del esquema, el punto mas alto (1) corresponde al momento en que el vector está mas próximo a la bobina. El mas bajo (3) al momento en que está mas lejos durante el giro o precesión. En los momentos 2 y 4, el vector está precesando por un eje perpendicular al eje de la bobina (en el ejemplo, el eje y).

Una onda con la morfología que muestra el esquema supondría que el vector se mantiene constante durante la precesión.

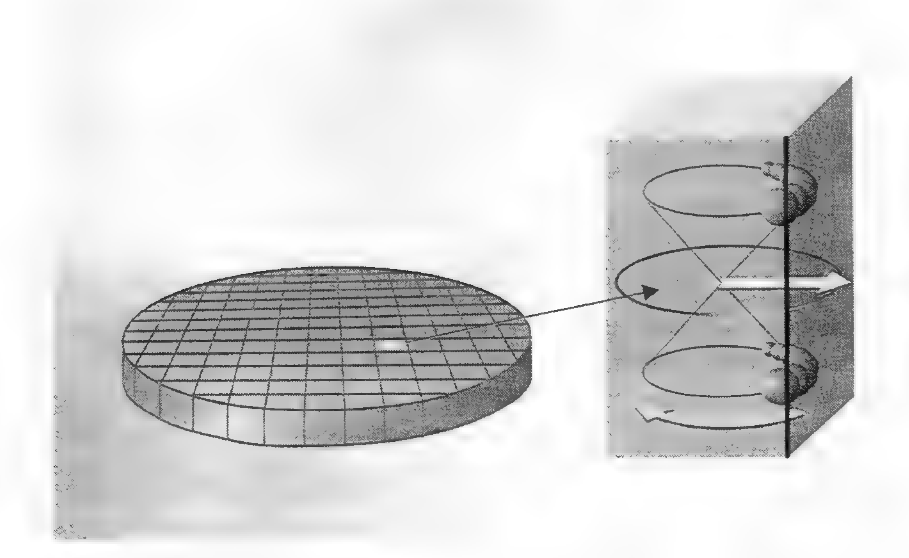


Sin embargo la señal decae muy rapidamente; desaparece en pocos ms. Esta señal se denomina: caida de la inducción libre (sus siglas en ingles son FID: free induction decay). La causa del decaimiento de la señal es la progresiva y rápida disminución del vector durante su precesión por el rápido desfase de los espines (ver relajación T2).

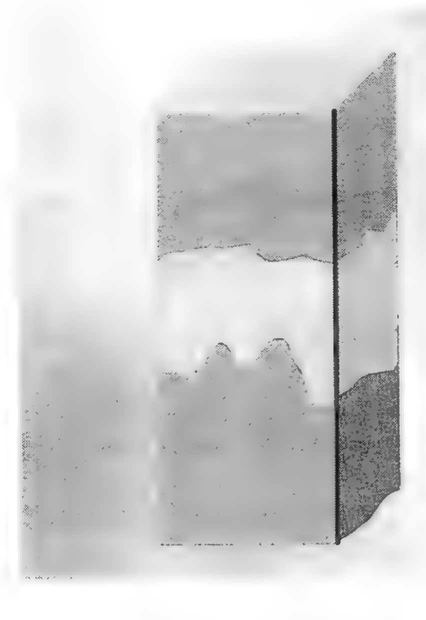
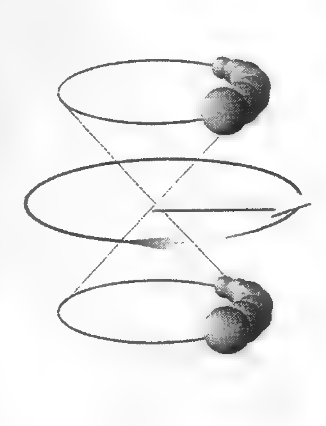
Parte III GENERACIÓN DE LA SEÑAL DE RM



Cada vóxel contribuye con su magnetización a la magnetización total, que es la que genera la señal. Para formar la imagen de RM hay que independizar la señal que proviene de cada uno. Por ejemplo para formar una imagen sobre una matriz de 256x256, hay que independizar la señal de 65.536 vóxeles.



En RM se mide la señal individual de cada vóxel. En este ejemplo se representa el vector de magnetización de un vóxel tras la aplicación de un pulso de 90°.

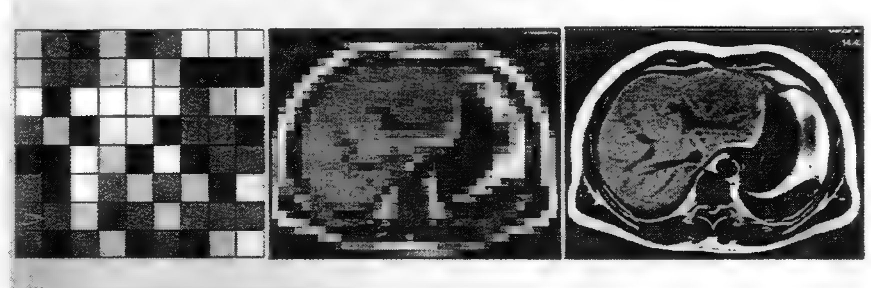



La señal de cada vóxel es es la media de todos los protones que contenga, independientemente del tipo de tejido. En el dibujo se representa un voxel con tres tejidos diferentes, que no se pueden independizar.

Intensidad de la señal de cada vóxel



Tono de gris de cada píxel



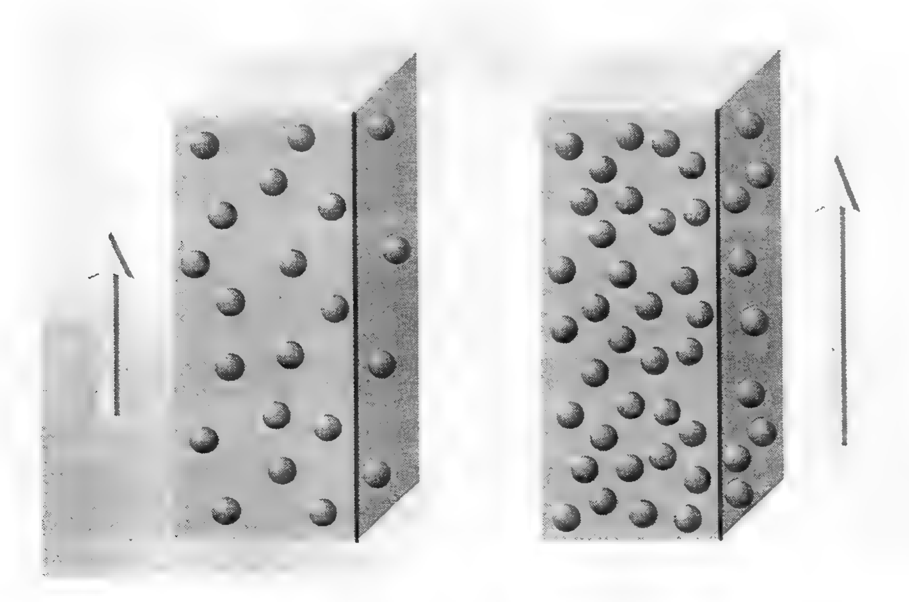
En la imagen final, la intensidad de señal que se ha independizado de cada vóxel se representa en una matriz de pixeles con un tono de gris. Comparando las dos imágenes de la derecha, se puede ver como la resolución y nitidez de la imagen final depende, entre otros factores, del tamaño de la matriz.

34

ALGUNOS PARÁMETROS ELEMENTALES

- **Densidad protónica**
- **Tamaño del vóxel**

Ya podemos comprender un parámetro elemental y su influencia en la imagen, como es la densidad protónica, que es la cantidad de protones contenida en un determinado volumen. Depende naturalmente del tejido, pero también del tamaño del vóxel. En un mismo tejido, cuanto mayor sea el vóxel, más protones contiene.



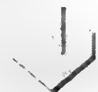
Un vóxel con un contenido mayor de protones tiene un vector de magnetización neto mayor, y la señal generada será mayor.

Parte III

Baja DP **Alta DP**

La señal generada por un tejido o un vóxel con una densidad de protones mayor será mas intensa que la de uno con menor densidad de protones, y como consecuencia se verá con un tono mas claro en la imagen.

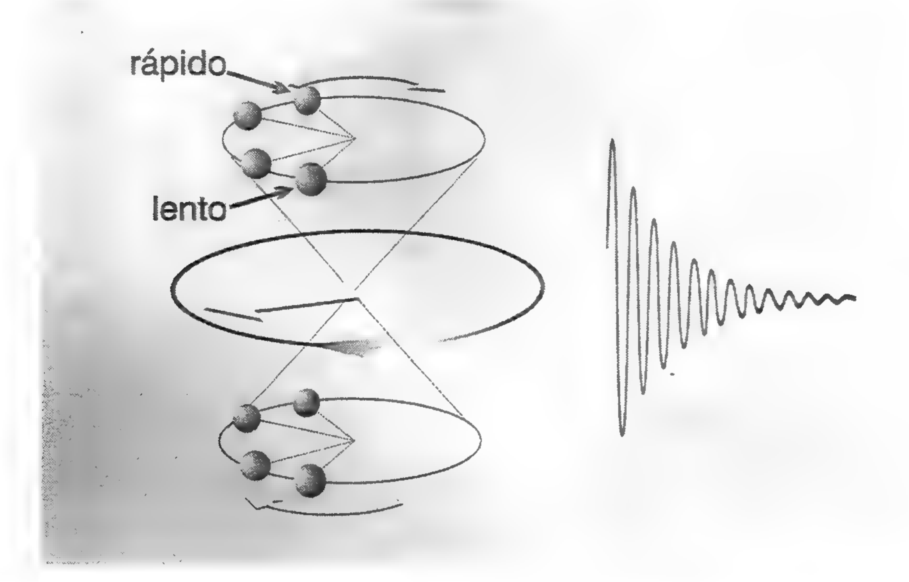
FIN DEL PULSO DE RF



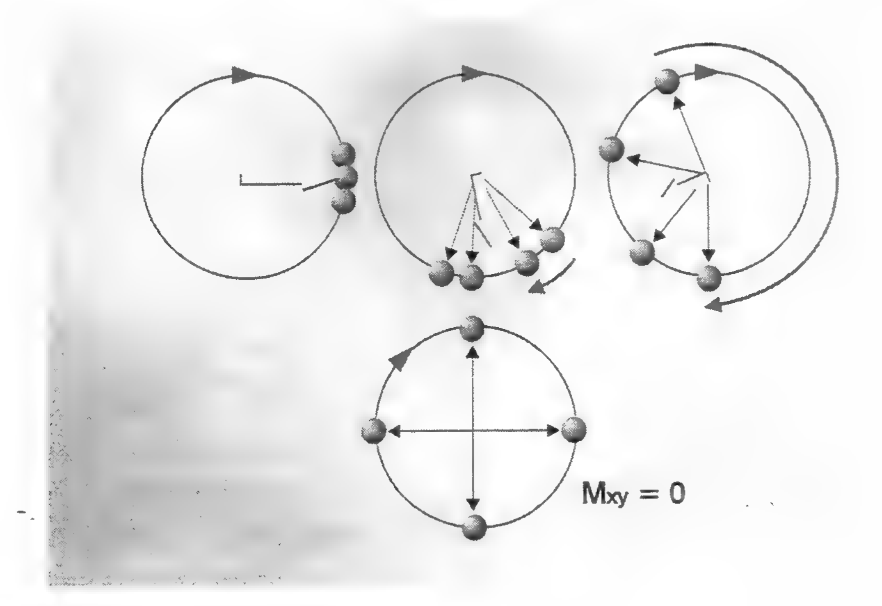
VUELTA A LA NORMALIDAD

RELAJACIÓN  ó MAGNETIZACIÓN

Tras la finalización del pulso de RF, la población de protones vuelve al estado anterior, o estado de relajación.

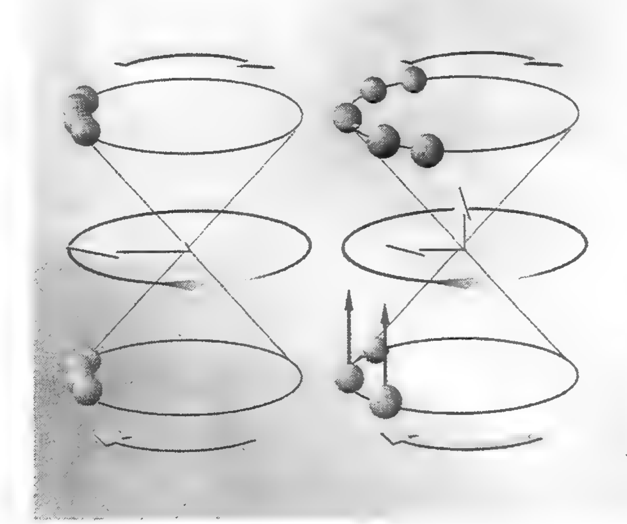


Los protones se desfasan rápidamente, siendo la causa de la rápida desaparición de la señal de resonancia. En el esquema se puede observar como el desfase se produce porque algunos protones precesan más lentamente que otros. El proceso se denomina relajación transversal.



Una visión desde arriba del esquema anterior nos muestra como se produce el desfase en este ejemplo teórico de cuatro protones. Cuanto más separados están los protones (mayor desfase), menor es el vector resultante.

Cuando el desfase es total, el valor del vector es cero.

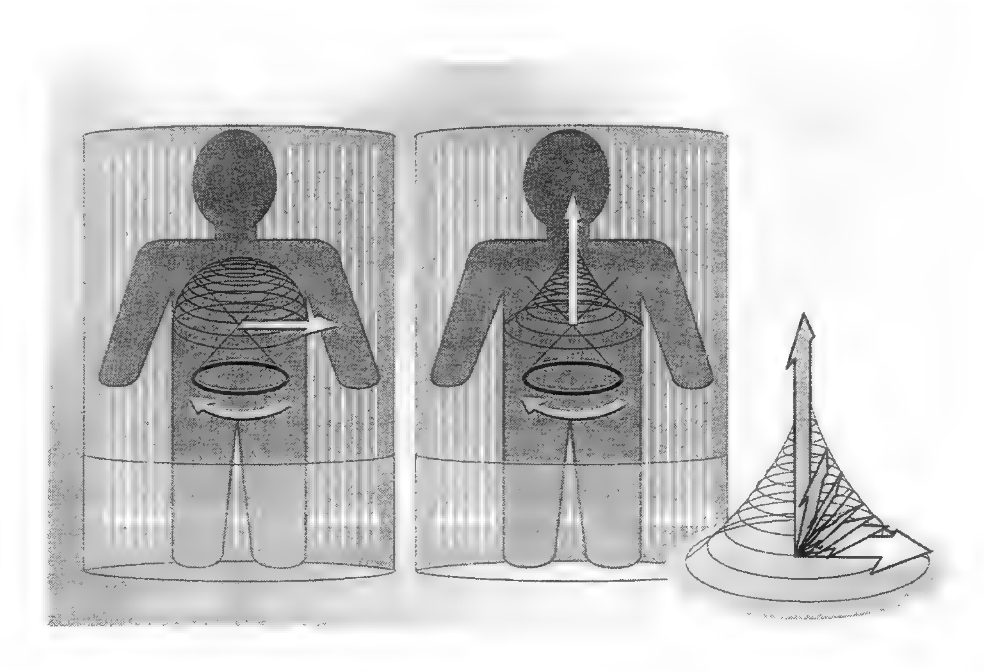


Desfase de protones
Mxy decrece

Paso de antiparalelos a paralelos
Mz crece

Simultanea pero independientemente al proceso de relajación transversal (disminución del vector transversal), se produce la vuelta de protones antiparalelos al estado paralelo, hasta alcanzar el estado de relajación. El vector longitudinal Mz, se recupera desde un valor 0. Este proceso se denomina relajación longitudinal.

La relajación transversal se denomina T2, y la relajación longitudinal se denomina T1.



El recorrido del vector de magnetización durante el proceso de relajación (esquema de la derecha) no es igual al recorrido durante el pulso de excitación tras el pulso de RF (esquema de la izquierda). En la relajación la desaparición del vector transversal es más rápida que la recuperación del vector longitudinal.

En el próximo capítulo se descibirán con detalle la relajación T1 y T2.

Parte IV

Relajación T1 y T2

Parte IV
RELAJACIÓN
T1 Y T2

RELAJACIÓN



Proceso que ocurre tras finalizar el pulso de RF.

Los cambios físicos inducidos por el pulso de RF vuelven a su estado inicial.

La relajación es el proceso por el que los protones vuelven al estado que tenían antes de la aplicación del pulso de excitación de RF.

FIN DEL PULSO DE 90°

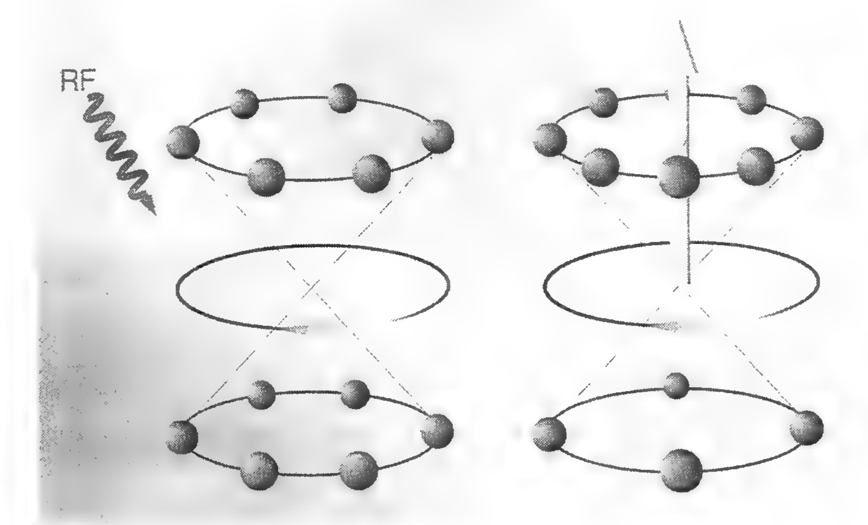




Recuperación de la magnetización longitudinal	Pérdida de la magnetización transversal

Durante el proceso de relajación, se devuelve la energía absorbida al entorno molecular, predominando progresivamente los protones en estado paralelo, y recuperándose el vector de magnetización longitudinal. Simultáneamente, los protones se desfasan y se pierde el vector transversal.

Estos dos procesos son simultáneos pero independientes.



En el esquema se considera únicamente el estado energético de los protones, no la fase; se puede observar como tras el pulso de 90º, el valor del vector longitudinal es 0, y posteriormente tras el proceso de relajación, éste se recupera.

T1
SPIN - LATTICE
ESPÍN - RED
GIRO - CELOSÍA
LONGITUDINAL
TÉRMICO

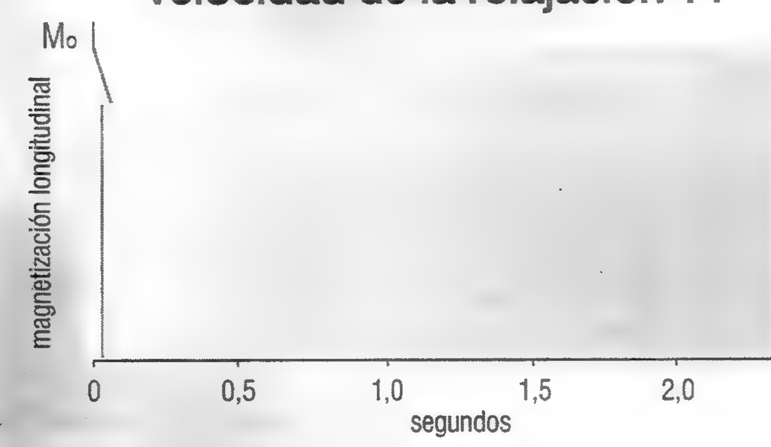
La recuperación del estado energético de baja energía (predominio de paralelos), o estado de equilibrio térmico, implica una disipación al medio molecular de la energía administrada con el pulso de RF. Esta relajación se denomina T1, *"spin-lattice"*, etc., debido a que la mayor parte de la energía se disipa en el entorno molecular.



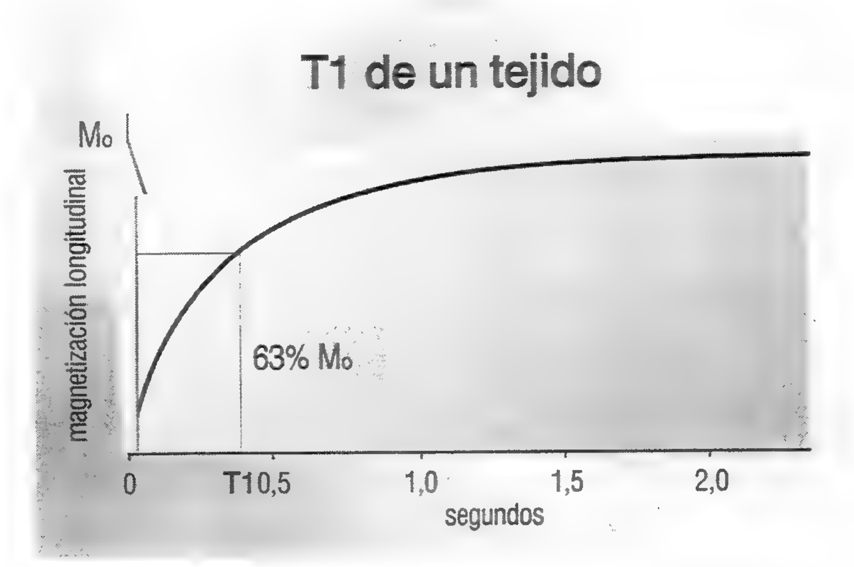


La recuperación del vector de magnetización longitudinal se efectúa de una manera progresiva. La velocidad con la que se recupera el vector depende de cada tejido, oscilando entre 100 y 200 ms para los tejidos con una relajación T1 más rápida, y algunos segundos para los tejidos con una relajación más lenta.

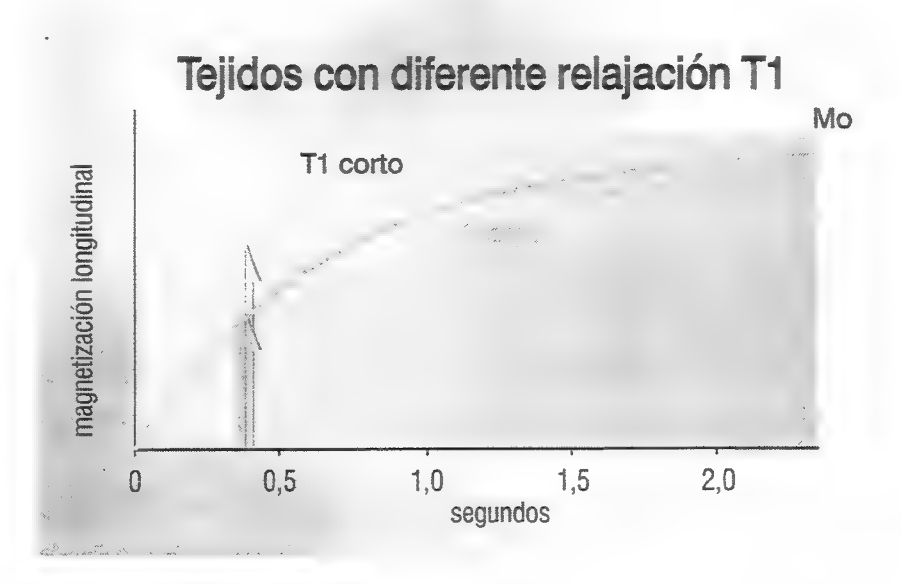
Velocidad de la relajación T1



La velocidad de la relajación T1 se representa mediante una curva exponencial, de tal manera que la relajación es más rápida en los primeros instantes y más lenta al final. En el esquema, el eje vertical indica la cantidad de magnetización longitudinal, y el eje horizontal el tiempo en segundos.

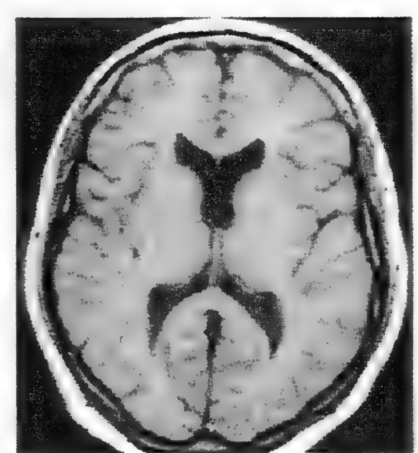


El T1 de un tejido se define como el tiempo que tarda en recuperarse el 63% de su magnetización longitudinal. El 27% restante tarda en recuperarse aproximadamente 5 veces más.



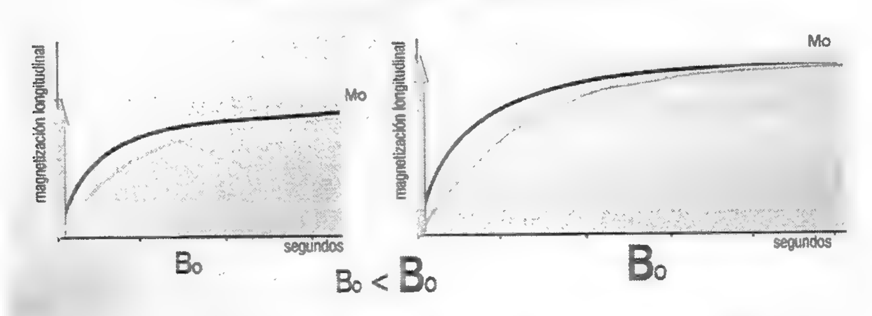
Las dos curvas representan dos tejidos con diferente relajación T1. La curva azul oscuro representa un tejido con un T1 más corto que el de la curva azul claro. En algo menos de 0,5 seg. el tejido representado por la curva azul oscuro ha recuperado más magnetización longitudinal.





Imágenes potenciadas en T1. En ellas se representan los diferentes tejidos según su grado de relajación T1 en un momento determinado. Los tejidos con un T1 más corto, como la grasa, muestran una mayor intensidad de señal (blancos en la imagen). El hígado tiene un T1 más corto que el bazo, y su señal es más intensa. En el cerebro, el LCR tiene el T1 más largo y es el más hipointenso. La sustancia gris tiene menor intensidad de señal que la sustancia blanca por su mayor contenido en agua libre.

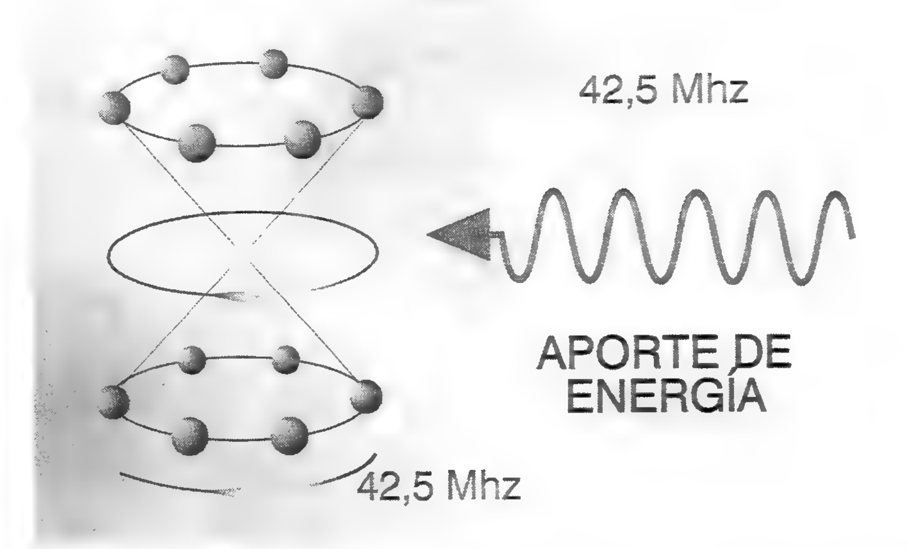
Le relajación T1 depende del CM



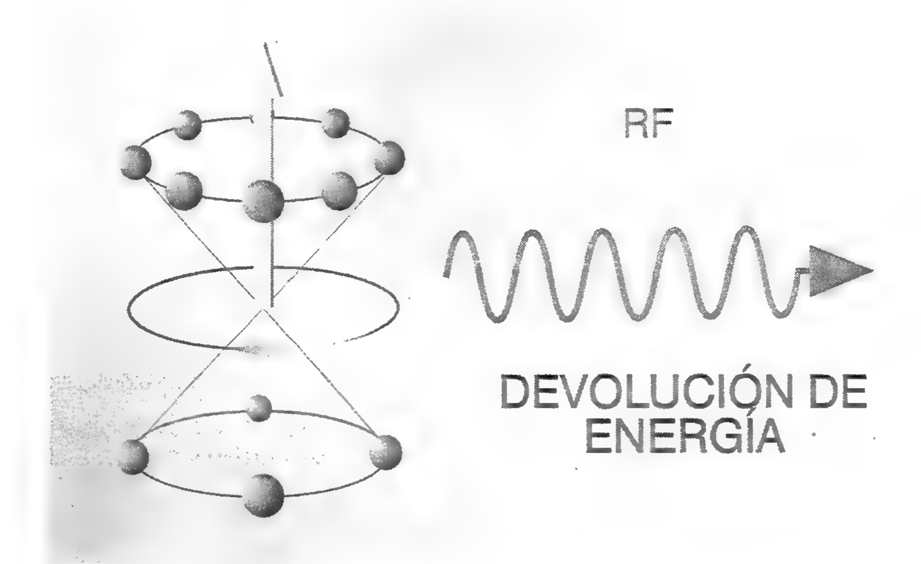
DEPENDE DEL CAMPO MAGNÉTICO (CM)

0,2 T	T1 más rápido
2,0 T	T1 más lento

La relajación T1 depende del campo magnético. Cuanto mayor es éste, más tiempo tarda esta relajación, ya que desde un valor 0 el vector tiene que alcanzar un valor mayor.

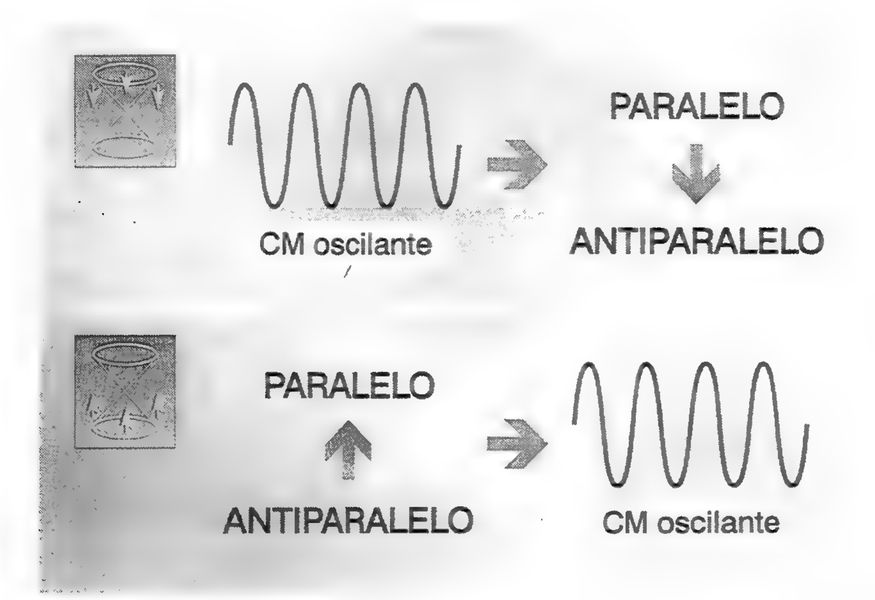


Para excitar los tejidos, y por lo que sabemos hasta ahora, para igualar el número de protones paralelos y antiparalelos, hemos tenido que aplicar pulsos de RF a la frecuencia de precesión de los protones.



Para que se produzca la relajación T1, la energía que ha sido introducida mediante la RF debe ser devuelta por el sistema de protones. Esta energía se disipa en el entorno molecular de los protones, habitualmente denominado "red" *("lattice" en inglés).*





Este proceso de relajación T1 es posible porque existe otro campo magnético oscilante cuya frecuencia está en el rango de la frecuencia de precesión de los protones.Sin este fenómeno los protones permanecerían excitados durante largos periodos de tiempo.

Todas las moléculas tienen
movimientos naturales

- vibración
- rotación
- traslación.

Movimientos moleculares

Moléculas pequeñas → Agua

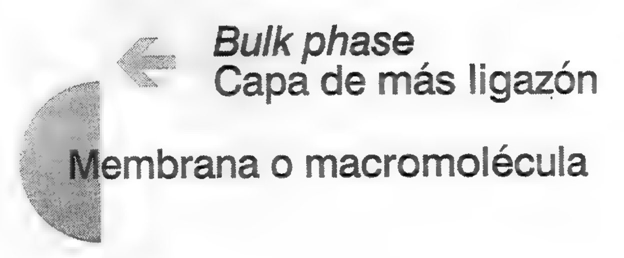
Movimientos rápidos
Frecuencias naturales altas

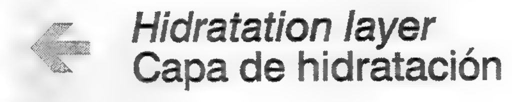
Moléculas grandes  Proteínas

Movimientos más lentos
Frecuencias naturales más bajas

Este campo magnético oscilante lo aportan los movimientos moleculares de las moléculas de los tejidos. Todas las moléculas tienen movimientos naturales de vibración, rotación y traslación. Las más pequeñas, como por ejemplo el agua, tienen movimientos naturales con una frecuencia más alta que otras moléculas más grandes o más ligadas.

ENTORNO MOLECULAR DE H_2O





En el entorno molecular del agua se pueden considerar tres fases o estados. Un agua libre denominada capa de hidratación o *"hidratation layer"*. Un agua más ligada o *"bulk phase"*, y un agua muy ligada e inmóvil en las membranas celulares o ligada a las macromoléculas.

ENTORNO MOLECULAR DE H_2O

Frec. de mov. próximas
a la frec. de LARMOR

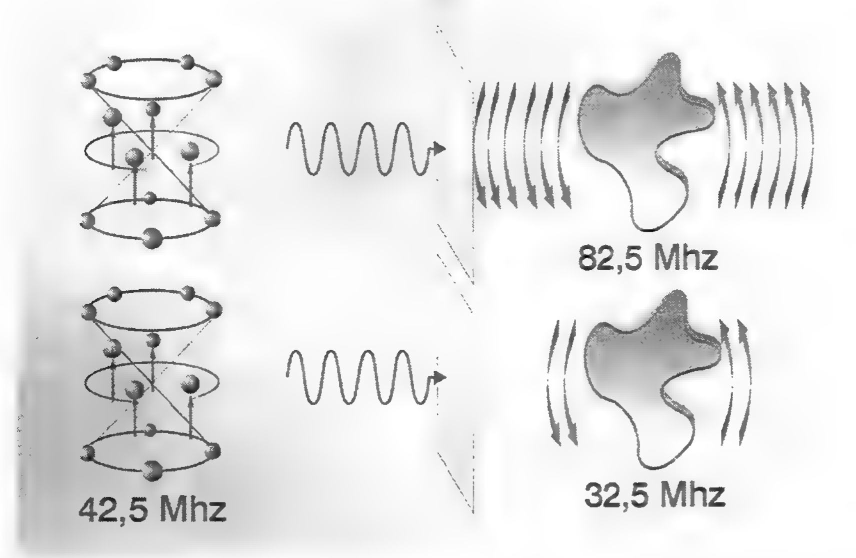
Membrana o macromolécula

Frec. de mov. más rápidas
que la frec. de LARMOR

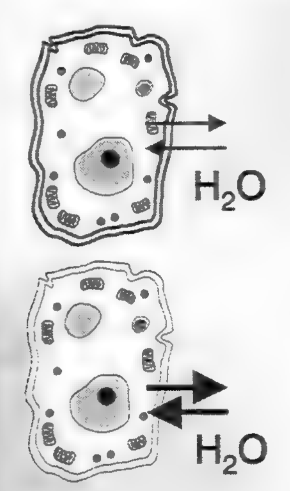
Los movimientos naturales del agua tienen una frecuencia natural mayor que la frecuencia de precesión. El agua ligada tiene una frecuencia próxima a la frecuencia de precesión, y el agua más fija e inmovilizada tiene frecuencias mucho mas bajas que la frecuncia de Larmor.

Los tejidos o estructuras que contienen agua ligada, tienen una relajación T1 más rápida (T1 corto). En los otros dos estados del agua, la relajación es lenta e ineficaz (T1 largo).



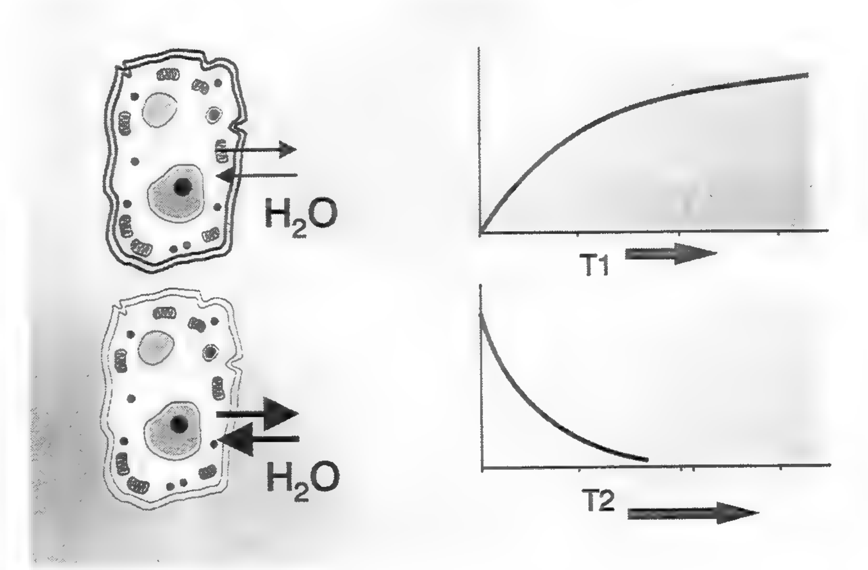


En este esquema se representa de manera gráfica cómo la energía no puede ser devuelta con facilidad al entorno, si la frecuencia de precesión de los protones y la frecuencia de los movimientos de las moléculas del entorno son diferentes.



En los tejidos "enfermos", en general por cualquier proceso patológico (inflamatorio, tumoral, degenerativo, traumático etc.), las células tienen una mayor permeabilidad al agua, por lo que el contenido de agua libre es mayor. En estos tejidos y estructuras el T1 es más largo.

El edema está compuesto preferentemente por agua libre, con un T1 largo.



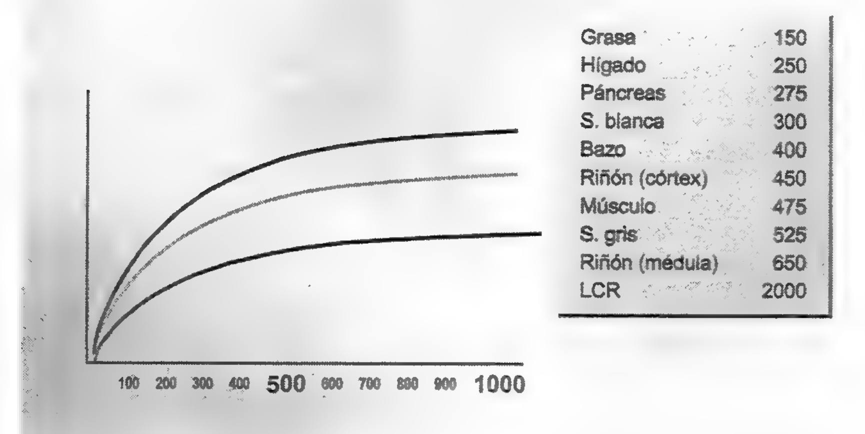
La curva de relajación T1 en rojo representa un tejido patológico, con respecto al tejido sano representado por la curva amarilla. La señal de resonancia del tejido con un T1 corto será mayor (más brillante en la imagen) que la del tejido con un T1 largo (más oscuro en la imagen).

Las curvas descendentes y las flechas correspondientes corresponden a la relajación T2, que veremos más adelante.

RELAJACIÓN T1

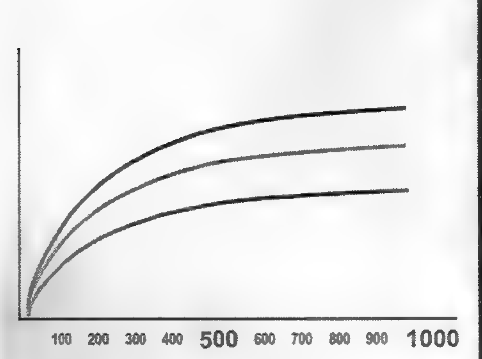
- **La relajación T1 sólo se produce si el protón percibe otro campo magnético fluctuante.**
- **Su frecuencia debe ser cercana a la frecuencia de precesión (frecuencia de Larmor)**

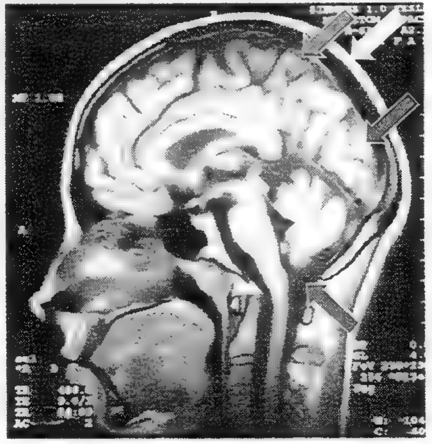
En resumen, la relajación longitudinal o relajación T1 se facilita cuando los protones peciben otro campo magnético fluctuante cercano, y si su frecuencia está próxima a la frecuencia de precesión o frecuencia de Larmor.



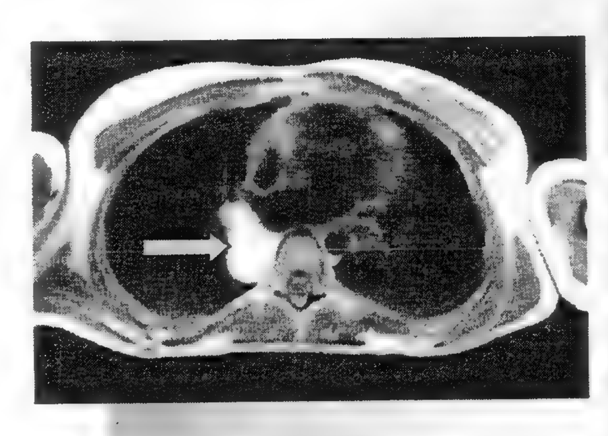
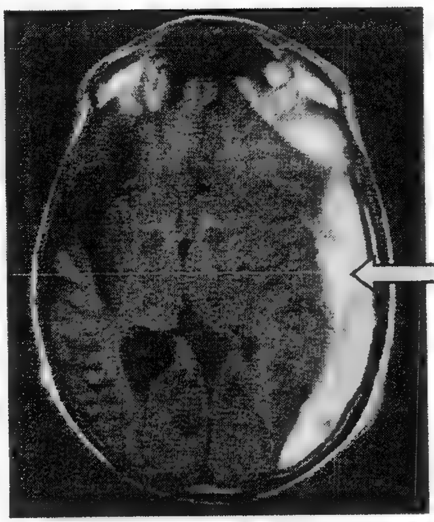
Grasa	150
Hígado	250
Páncreas	275
S. blanca	300
Bazo	400
Riñón (córtex)	450
Músculo	475
S. gris	525
Riñón (médula)	650
LCR	2000

La relajación es diferente para cada tejido. En general depende del contenido de agua libre.
El caso de la grasa es especial, y su T1 tan corto es debido a que las moléculas de triglicéridos "vibran" a una frecuencia muy próxima a la frecuencia de Larmor.
El T1 del hígado es corto por su contenido en grasa.
El bazo y los riñones tienen más agua libre que otros órganos, y su T1 es largo.
La sustancia gris tiene más agua libre que la blanca, y su T1 es más largo.
El LCR, así como la orina, bilis, y líquidos en general, tienen el T1 más largo (más de 1 segundo).





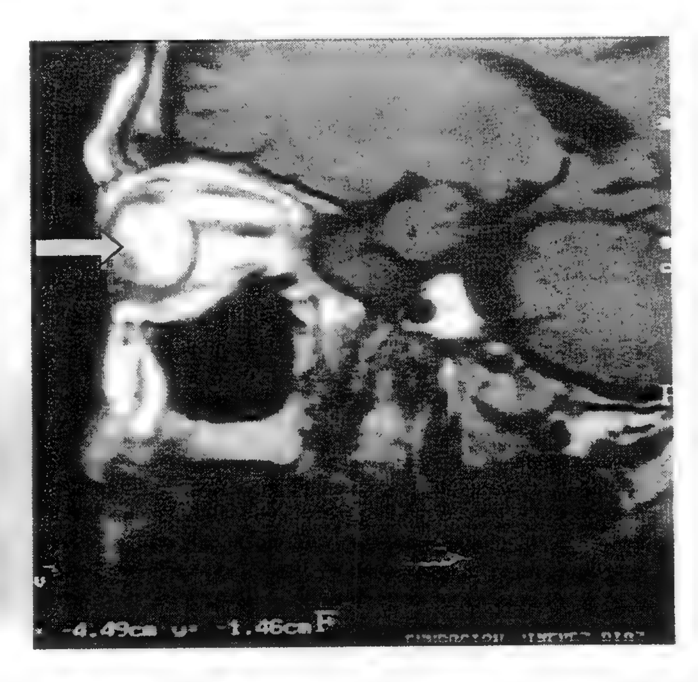
En este corte sagital del cráneo se demuestra la intensidad de señal de las estructuras según su diferente T1, descrito en el cuadro anterior. Grasa brillante (flecha amarilla), sustancia gris (flecha roja), sustancia blanca (flecha azul), y LCR (flecha verde).

En alguna circunstancia se pueden observar estructuras líquidas con T1 corto, y por lo tanto una señal intensa, como en estos dos ejemplos.

A la izquierda se muestra un quiste broncogénico hiperintenso en T1 (flecha). Esto es debido a que el contenido líquido del quiste tiene una alta concentración de proteínas, que enlentecen el movimiento del agua, aproximándose la frecuencia de sus movimientos a la frecuencia de precesión y acortando el T1.

A la derecha se muestra una hemorragia subaguda (flecha). Los hematomas en esta fase tienen un T1 corto y son hiperintensos.



En esta imagen potenciada en T1 (corte sagital a través del globo ocular), el contenido del globo es hiperintenso (flecha). En condiciones normales el contenido líquido del ojo debe ser hipointenso. En este caso la hiperintensidad se debe a la existencia de un melanoma ocular. La melanina actúa como una sustancia paramagnética que acorta el T1 (Cortesía del Dr. A. Pérez Higueras, Fundación Jimenez Diaz).

T2

Denominación arbitraria
para diferenciar de T1

Relajación Espín - Espín
Relajación Protón - Protón
Relajación Transversal

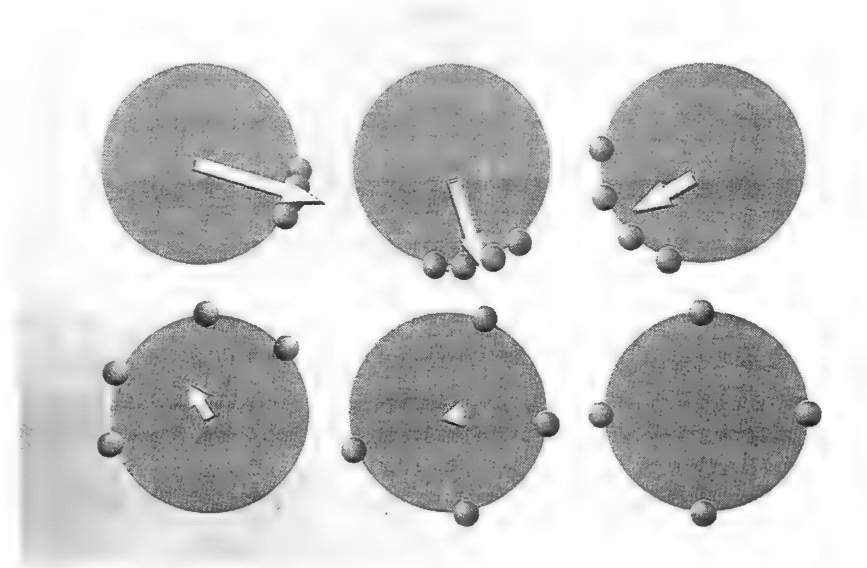
Simultáneamente a la relajación longitudinal, se produce la relajación transversal. Esta recibe la denominación arbitraria de T2, relajación espín-espín, o protón-protón. Recuérdese que en la literatura anglosajona, se habla de espín como sinónimo de protón. En español, espín se refiere únicamente a la propiedad de algunas partículas por la que tienen un movimiento de giro sobre su eje (movimiento de espín).

RELAJACIÓN T2

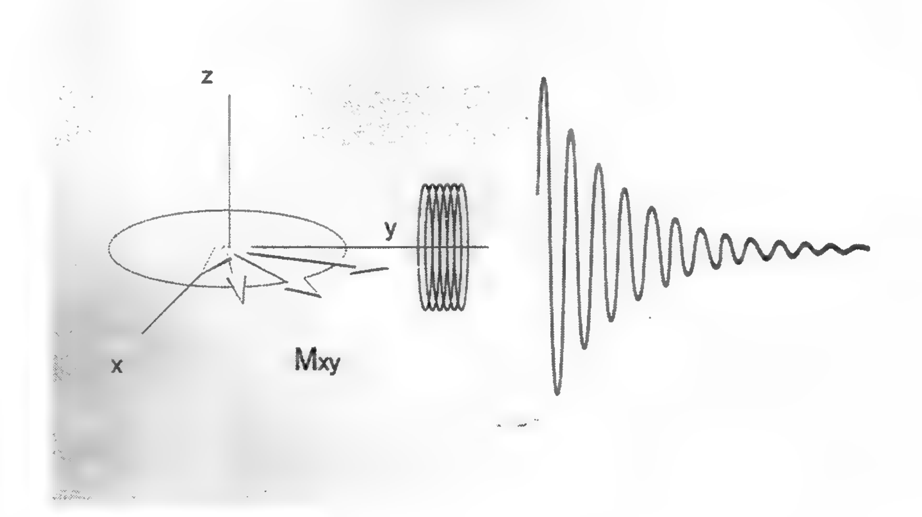
- Medida del tiempo que permanecen en coherencia o en fase los protones, después de un pulso de 90°
- Tiempo que tarda en perderse la magnetización transversal (M_{xy}), en un CM externo perfectamente homogéneo

La relajación T2 mide el tiempo que los protones permanecen en fase o en coherencia después del pulso de excitación. T2 define el tiempo que tarda en perderse el componente transversal (Mxy) de la magnetización, en un campo magnético externo perfectamente homogéneo.

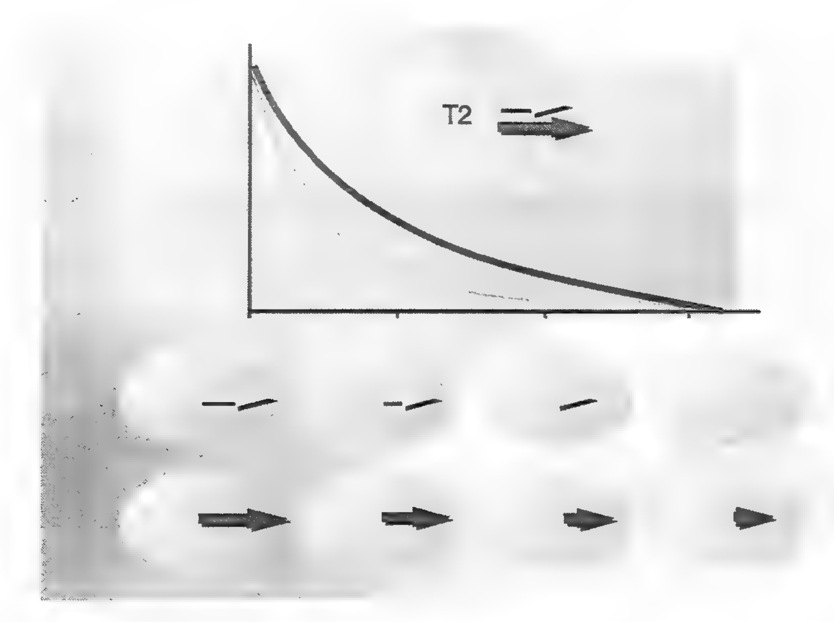
Parte IV



En este ejemplo teórico de cuatro protones, vistos desde arriba, podemos observar como se desfasan progresivamente, y el vector de magnetización transversal disminuye hasta su desaparición total.

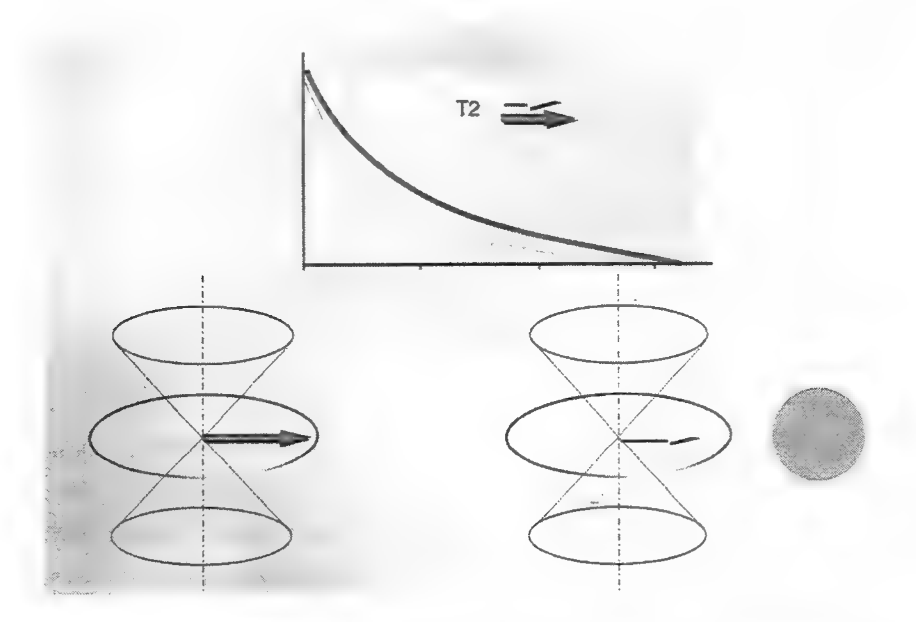


Si en cada giro durante su precesión el vector es menor, la corriente eléctrica inducida en la bobina (FID) disminuye progresiva y rápidamente hasta desaparecer en un tiempo no mayor de, aproximadamente, 100 ms.



Las dos curvas representan la pérdida del vector transversal por la relajación T2. Al igual que en T1, éstas tienen una forma exponencial. El tejido representado con la curva de color rojo tiene un T2 más largo (lento) que el tejido en amarillo. El primero tarda más tiempo en perder su componente transversal de la magnetización.

El T2 de un tejido corresponde al punto donde la curva ha perdido un 63% de su valor original (no representado en la figura).



Si se representa la señal de ambos tejidos en un momento determinado, el representado por la curva de color rojo, que mantiene un vector de tamaño mayor que el amarillo, será más intenso en la imagen; los tejidos con un T2 más largo son más brillantes en las imágenes potenciadas en T2.

T1 más lento que T2

T1 T2

300 - 2000 ms 30 - 150 ms

En las curvas representadas se puede observar como T1 es mucho mas lento que T2, del orden de 100 veces.

Causas de T2

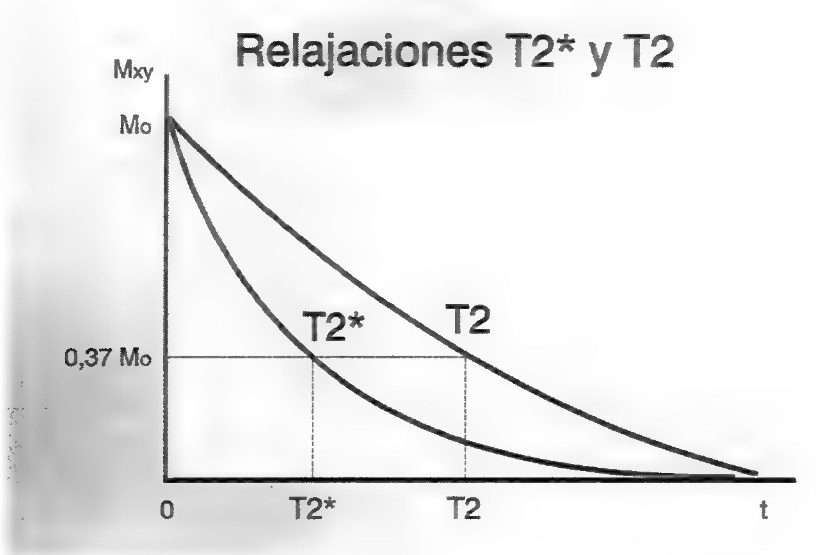
Pequeñas diferencias en los
CAMPOS MAGNÉTICOS LOCALES





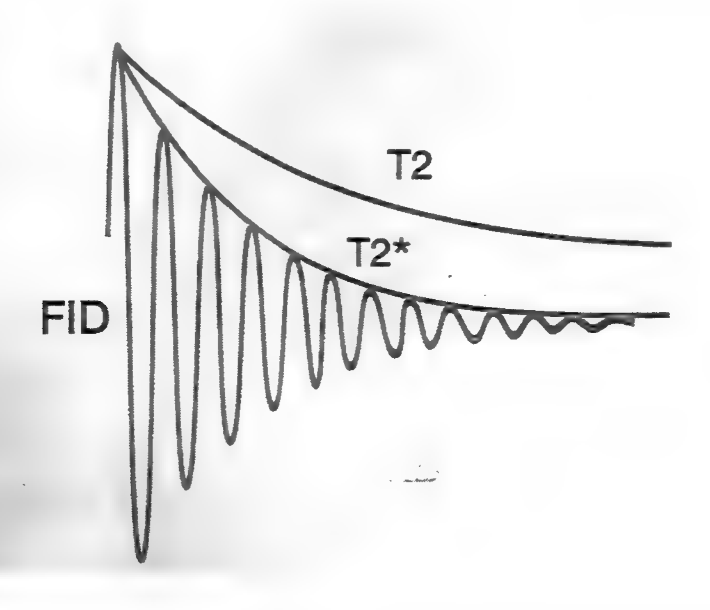
Las causas de T2 son las heterogeneidades de los campos magnéticos locales, tanto por parte del imán como por parte de los tejidos.

45

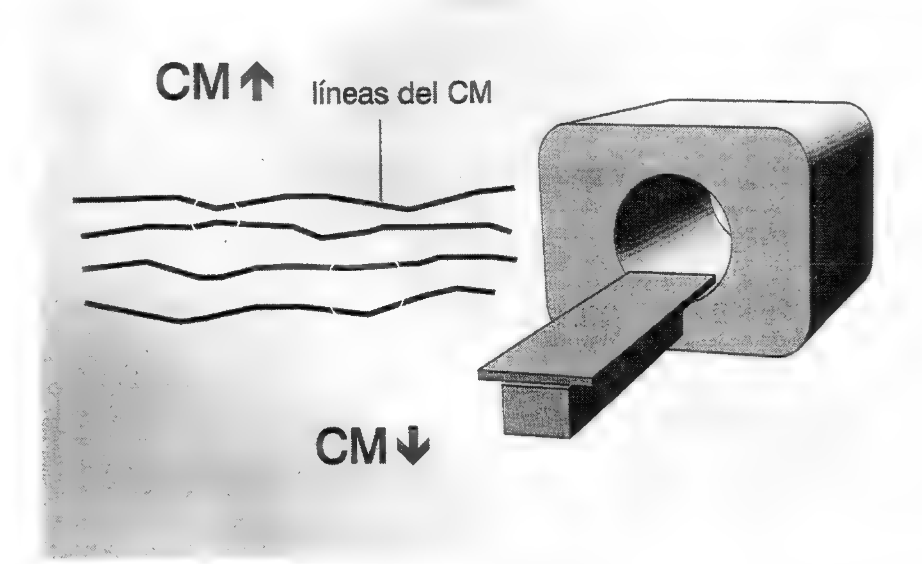


Ambas curvas representan la relajación transversal de un mismo tejido. Cuando la relajación está causada conjuntamente por las heterogeneidades del imán y de los tejidos se denomina T2* (T2 asterisco). Si se pudieran compensar las heterogeneidades del imán la curva sería más lenta y se denomina T2 (esto se aplica en la secuencia eco de espín, como veremos más adelante).

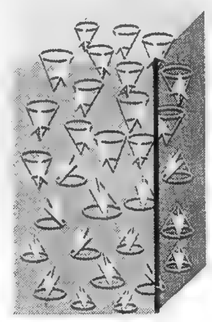
En este esquema se representa además, en ambos casos, el valor de T2 del tejido; cuando ha perdido el 63% de su valor inicial.



La curva que se traza con los picos de la FID representa el T2*. La curva de T2 (curva superior) es más lenta.



El campo magnético creado por el imán no es perfectamente homogéneo (no hay imán perfecto). Si de una manera ideal y teórica pudiéramos observar las líneas del campo magnético, veríamos como estas no son paralelas; existen zonas donde están más juntas (campo magnético más intenso) y otras donde están más separadas (campo magnético más débil).





Por lo tanto, los protones localizados dentro de un vóxel perciben campos magnéticos ligeramente diferentes según su localización. Los que perciben un CM débil precesarán más despacio que los que perciben uno más intenso. Esta heterogeneidad del imán es causa de desfase. Por lo tanto el valor de T2* varía según el equipo de RM, y depende de la calidad (homogeneidad) del imán.

La existencia de sustancias que alteran el CM también acelera T2*



Hemosiderina
Trabéculas óseas



SUSCEPTIBILIDAD MAGNÉTICA

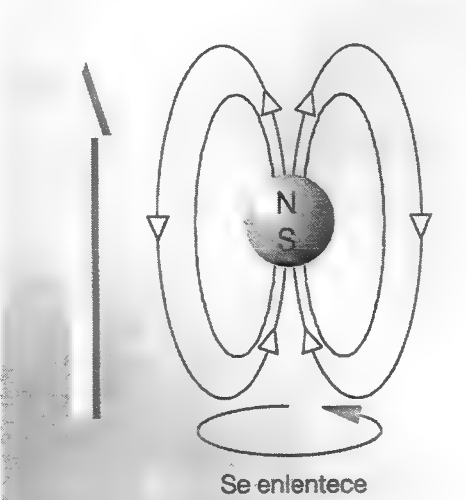
Ya podemos comprender un parámetro elemental y su influencia en la imagen, como es la densidad protónica, que es la cantidad de protones contenida en un determinado volumen. Depende naturalmente del tejido, pero también del tamaño del vóxel. En un mismo tejido, cuanto mayor sea el vóxel, más protones contiene. Cuando los tejidos contienen sustancias con una gran susceptibilidad magnética (en general metales, como la hemosiderina que contiene hierro, y las trabéculas oseas que contienen calcio), pueden alterar la homogeneidad del campo magnético y favorecer el desfase. En este caso la señal se pierde rápidamente y la intensidad de estos tejidos es baja.

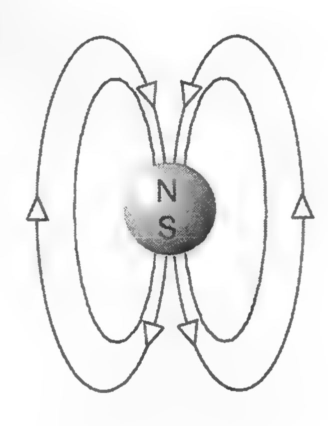
T2

Sólo de los tejidos

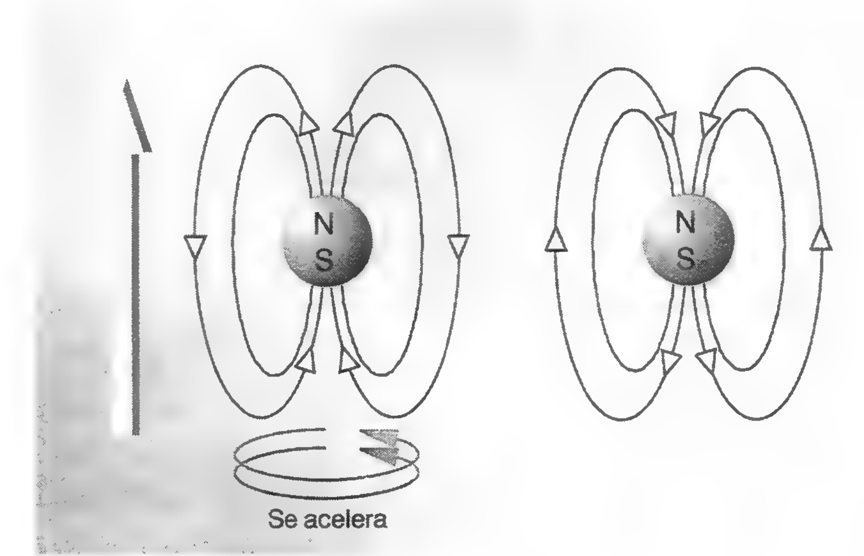
Interacción Espín - Espín
o Protón - Protón
o Dipolo - Dipolo

La causa de T2 por parte de los tejidos (en realidad es la que generalmente queremos cuantificar) es la interacción entre protones.





Cuando un protón percibe otro protón cercano que tiene un campo magnético opuesto, su movimiento de precesión se enlentece.

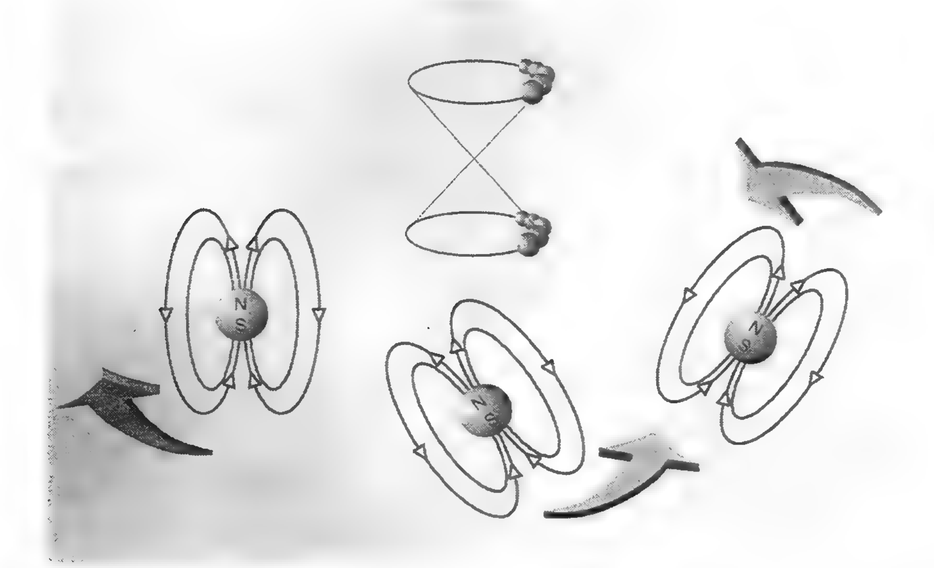


Cuando el protón cercano tiene su campo magnético en el mismo sentido los dos se suman y el protón se acelera.

Esta interacción magnética entre protones es el mecanismo principal de T1 y, sobre todo, de T2.

La distancia entre protones también afecta a la relajación T2. Cuando los protones están alejados entre sí sólo perciben el CM principal, y no se afectan mutuamente.

47



Ya conocemos que las moléculas grandes y pequeñas están en constante movimiento. Estas producen fluctuaciones en los campos magnéticos locales que serán experimentados por el protón. Los movimientos de estos protones "vecinos", alteran el campo magnético percibido por los protones resonantes.

ENTORNO MOLECULAR DE H_2O

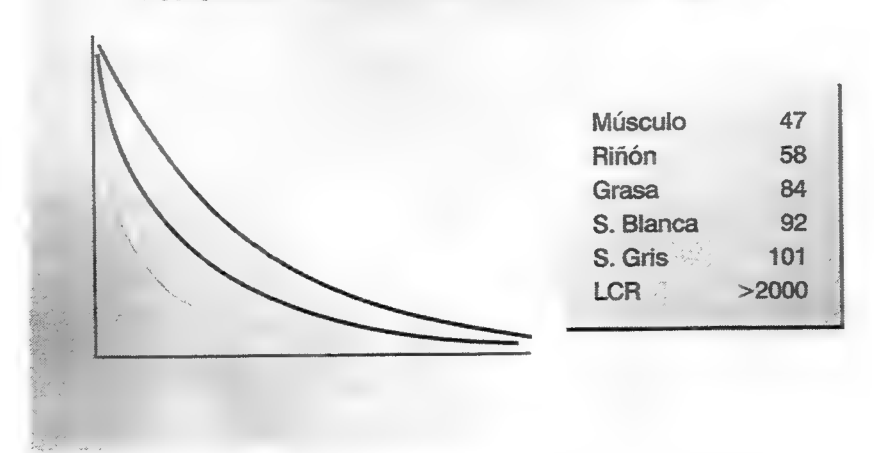
Frec. de mov. próximas
a la frec. de LARMOR

Membrana o macromolécula

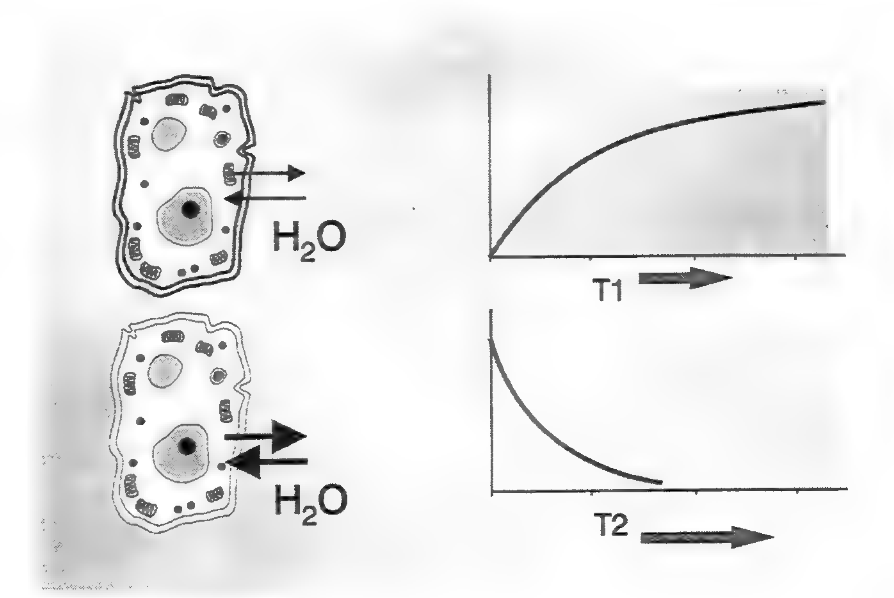
Frec. de mov. más rápidas
que la frec. de LARMOR

Las fluctuaciones del CM en los propios tejidos próximas a la frecuencia de Larmor o más bajas, como el agua ligada o el hidrógeno en las macromoléculas y membranas celulares favorecen el desfase (T2 corto).

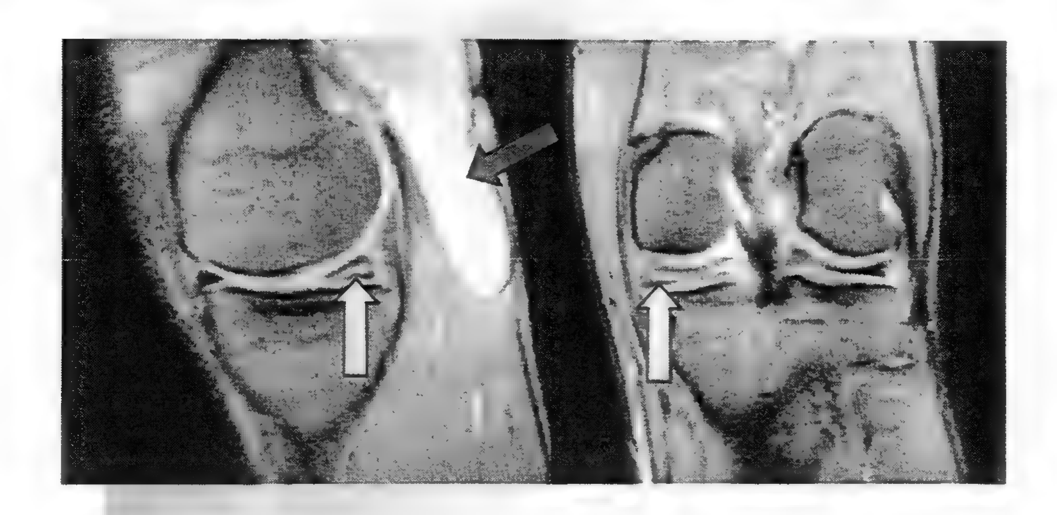
La frecuencias más altas, los campos magnéticos oscilantes rápidos, como por ejemplo en el agua libre, no favorecen el desfase y éste es más largo (T2 largo). Cuando las frecuencias son altas, los protones no van a "ver o percibir" un campo magnético que cambia a esa velocidad.



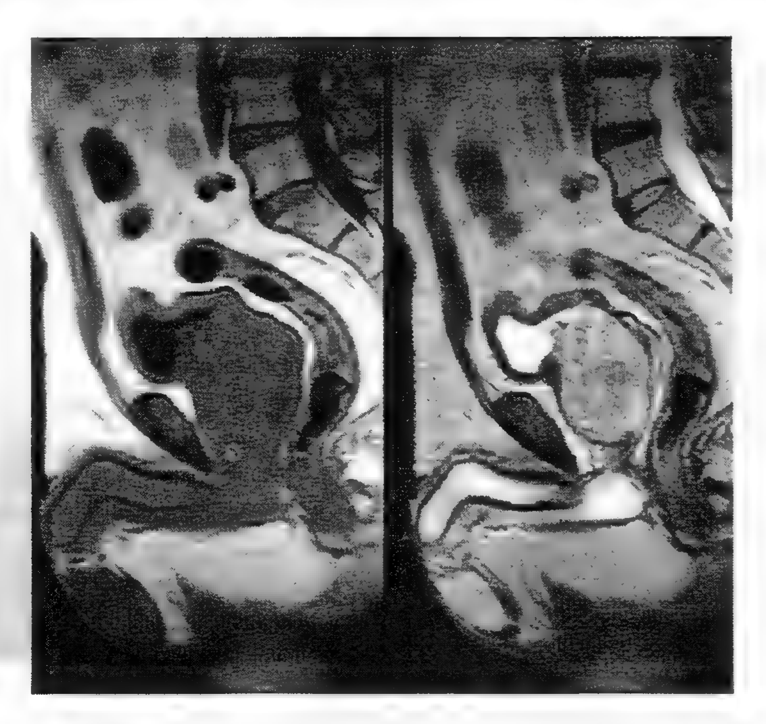
Los valores de T2 (en este caso se indican en un CM de 1T), dependen preferentemente de la cantidad de agua libre de los tejidos. El tejido con un T2 más largo es el LCR o los líquidos en general.



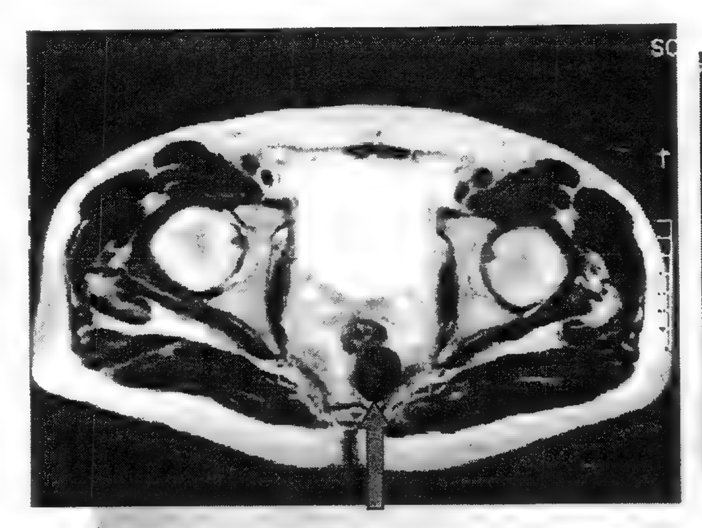
Los tejidos patológicos tienen en general un T2 más largo, por su mayor contenido en agua libre. Su señal será mayor en las secuencias potenciadas en T2 (Curva y flechas rojas en la relajación T2).



Los cortes axial y coronal de la rodilla. en esta secuencia potenciada en T2, muestran la hiperintensidad de la señal de un quiste de Baker (flecha roja), y la señal aumentada en el seno del menisco interno por aumento de agua libre en la zona de rotura meniscal (flecha amarilla).

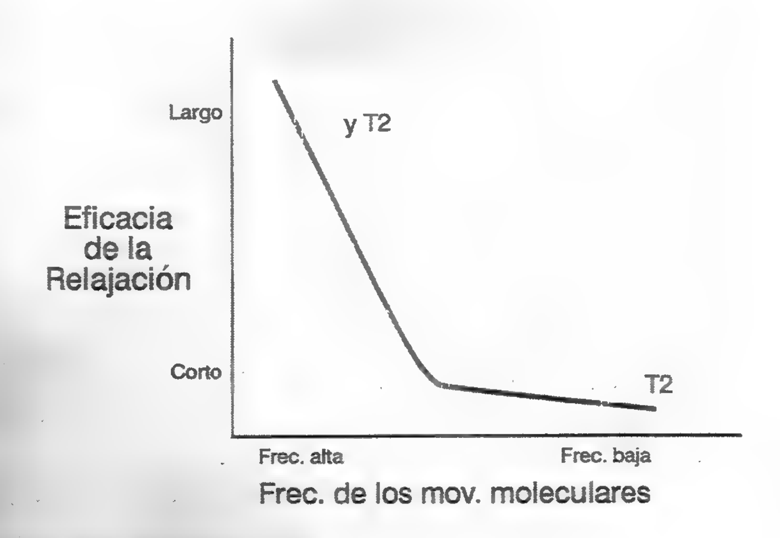


El efecto T2 es muy significativo sobre la imagen, y demuestra claramente las estructuras patológicas. En este ejemplo se muestra en un corte sagital la intensidad de señal de una tumoración prostática en T1 (izquierda) y T2 (derecha). Observese la hiperintrensidad de la tumoración y la hiperseñal de la orina en T2, mientras que en T1 la señal es contraria.





Corte axial y sagital de la pélvis, en los que se muestran un hematoma crónico postbiopsia en región pararectal (flecha roja). El acúmulo de sustancias de degradación de la sangre (hemosiderina), produce heterogeneidades locales del campo magnético y se produce un desfase rápido de los protones (T2 muy corto y como consecuencia una señal oscura).



Esta gráfica resume la relación entre la frecuencia de los movimientos moleculares y la relajación T1 y T2. La relajación es más eficaz (rápida) cuando la frecuencia de los movimientos moleculares está próxima a la frecuencia de precesión (relajación T1 y T2 rápida). Con frecuencias más altas T1 y T2 se alargan. Cuando los movimientos moleculares son lentos el T2 se acorta, mientras que el T1 se alarga.

Parte V

Secuencias
Secuencia eco de espín

SECUENCIAS

Herramientas (programables) para obtener imágenes

Pulsos de RF + Gradientes



Se llaman secuencias a las series de pulsos de RF y gradientes que se aplican, bajo el control de un ordenador, para la formación de imágenes. Básicamente determinan la inclinación del verctor de magnetización (grados de inclinación), el tiempo que tiene que transcurrir entre cada pulso de excitación, y el tiempo de adquisición de la señal de eco.

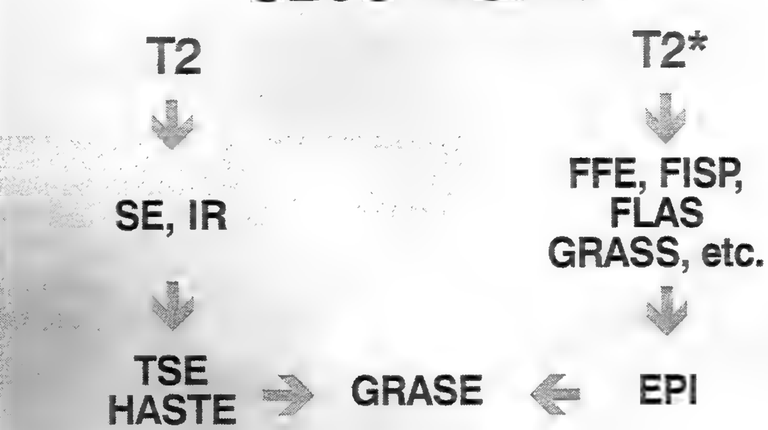
Infinidad de siglas y acrónimos

SE, FFE, GRE, MPGR, FE, PFI, GE, GFE, FLASH, TURBO FLASH, TFE, SMASH, SHORT, FLASH, SPG, IR, GFEC, 3D MP RAGE, T1-FFE, FLOWCOMP, GMR, CFAST, MAST, FLAG, GMC, FC, SMART, GR O GRE, SSFP, DE FGR, CE-FAST, true FISP, PSIF, ROAST, T2-FFE, STERF, GRASS, FGR, FISP, FAST, GFEC, F-SHORT, SAT, REST, PRE-SAT, PRESAT, BFAST, SATURATION, FATSAT, SPIR, RESCOMP, RSPE, PEAR, GRASE, TURBO SE, FAST SE, EPI, FFE-EPI, IR-EPI, etc.

Existe una gran cantidad de secuencias, que se denominan con multitud de siglas y acrónimos. Aquí se muestran algunos ejemplos, desde la secuencia más elemental como SE que son las siglas de *spin-echo*, hasta EPI que son las siglas de la secuencia *echo planar imaging*.

Parte V

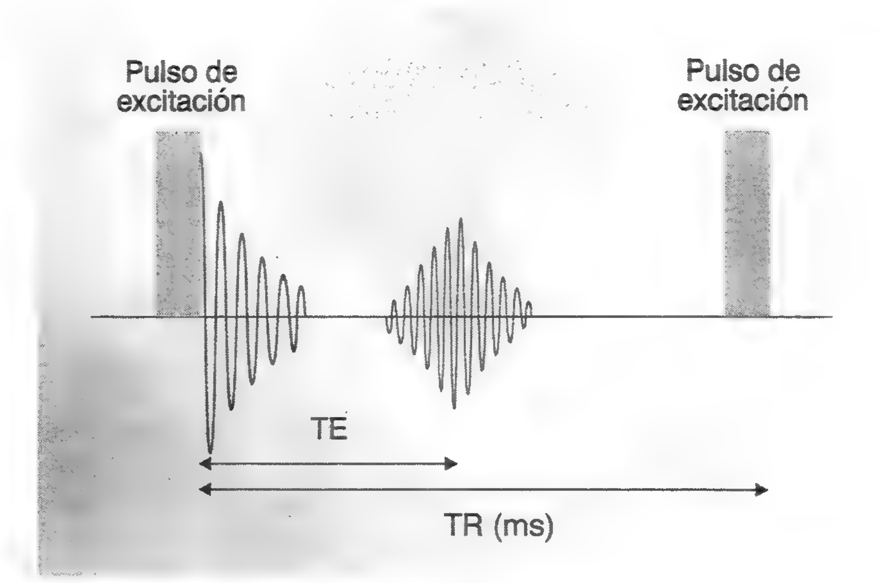
SECUENCIAS



Las secuencias se pueden clasificar en dos tipos: las que se derivan de T2 (SE y similares), y las que se derivan de T2* (secuencias de eco de gradientes y similares). En las primeras, el eco se forma con pulsos de RF que corrigen las heterogeneidades del campo magnético, y en las segundas el eco se forma por gradientes, en cuyo caso no se corrigen las heterogeneidades del campo magnético.

- Manejar el contraste
  - Mejor y mayor contraste
  - Histodiferenciación
- Mayor velocidad de adquisición
- Alta relación S/R
- Detalle (>RE)n
- Menos artefactos

En su evolución, las secuencias tratan de mejorar la calidad de la imagen y la información obtenida. Mediante el manejo del contraste, resaltando unos tejidos y anulando la señal de otros, se mejora la discriminación tisular, e incluso en ocasiones es posible la caracterización de determinados tejidos. Naturalmente, la adquisición debe ser lo más rápida posible, sin merma del detalle, con una alta relación S/R, y con los menos artefactos posibles. Esto no se consigue siempre de manera simultánea, ya que algunas de estas características exigen requisitos contradictorios.



Dos parámetros básicos en una secuencia son el intervalo entre pulsos sucesivos de excitación (o inclinación del vector de magnetización), denominado tiempo de repetición (TR), y el tiempo transcurrido entre el pulso de excitación y la adquisición del eco (exactamente en el centro del eco) o tiempo de eco (TE). Ambos se expresan en milisegundos (ms).

El pulso de excitación más el eco (algunas veces pueden ser varios ecos) se denomina ciclo de pulso o de pulsos.

Para crear una imagen, normalmente hay que repetir el ciclo 128, 256, 512 ó 1024 veces, dependiendo del tamaño de la matriz.

IMAGEN POTENCIADA EN ...

Es sensible a un determinado parámetro

DP, T1, T2, flujo, difusión ...

Hacemos que un parámetro tenga más influencia que otro, aunque siempre existe influencias de los demás.

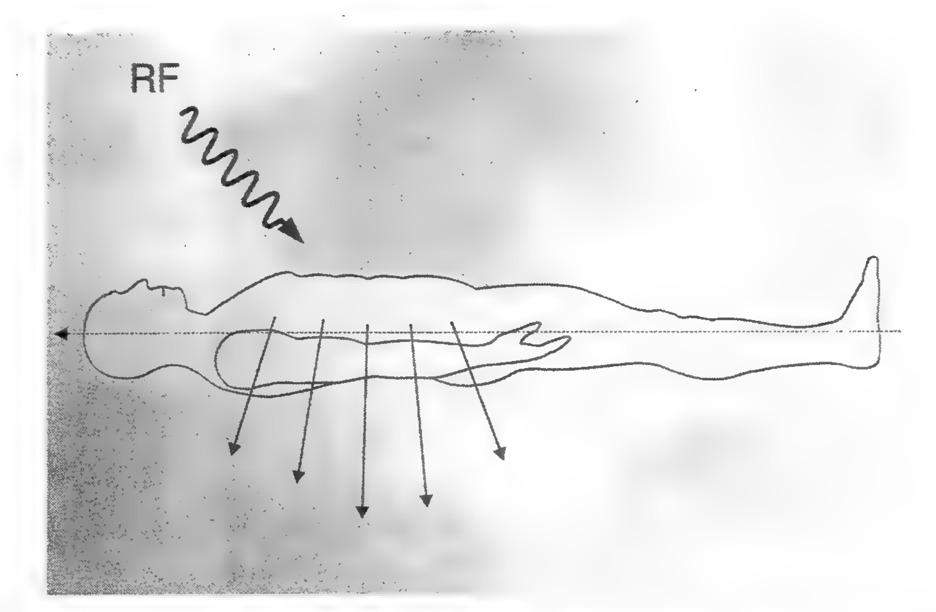
Las secuencias pueden reflejar un determinado contraste en la imagen. Cuando hablamos de una secuencia potenciada en T1 queremos decir que el contraste entre tejidos se basa preferentemente en su diferente relajación T1. Lo mismo para T2 y para la densidad de protones (DP).

Sin embargo, el contraste no siempre es "puro", y aunque un parámetro tenga más influencia que otro, los demás, incluyendo otros factores como la difusión y el flujo, pueden afectar también al contraste de la imagen.

Parte VI

Formación de la Imagen

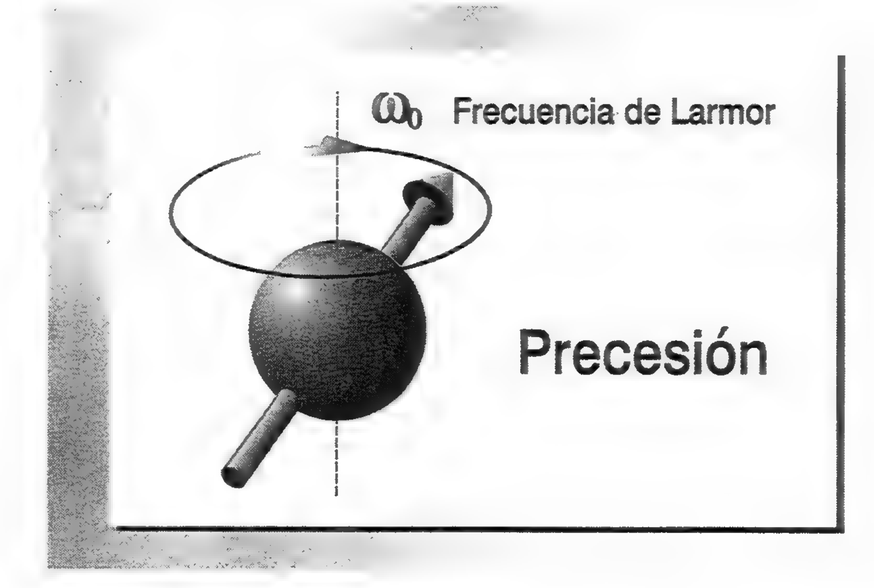
Selección de corte
Codificación de fase
Codificación de frecuencia
Espacio K
Manejo básico del espacio K
Manejo avanzado del espacio K



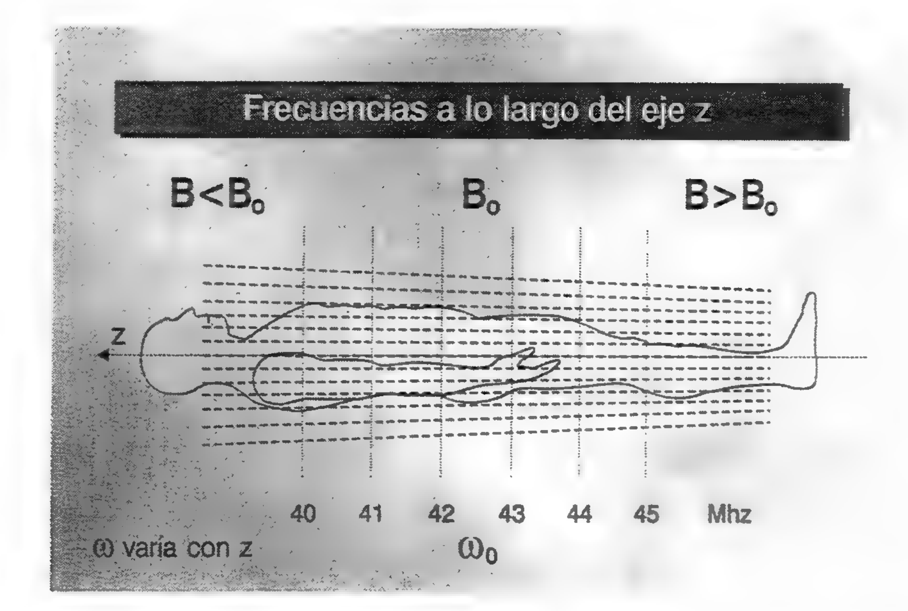
Por lo que hemos visto hasta ahora, los pulsos de RF que se aplican para la excitación de los protones no son selectivos. Esto quiere decir que el pulso de RF afecta a toda la muestra, inclinando el vector de magnetización de todos los tejidos expuestos.

Para la formación de la imagen en RM, en primer lugar hay que aplicar pulsos de RF selectivos para definir un corte, tanto para su localización como para su grosor.

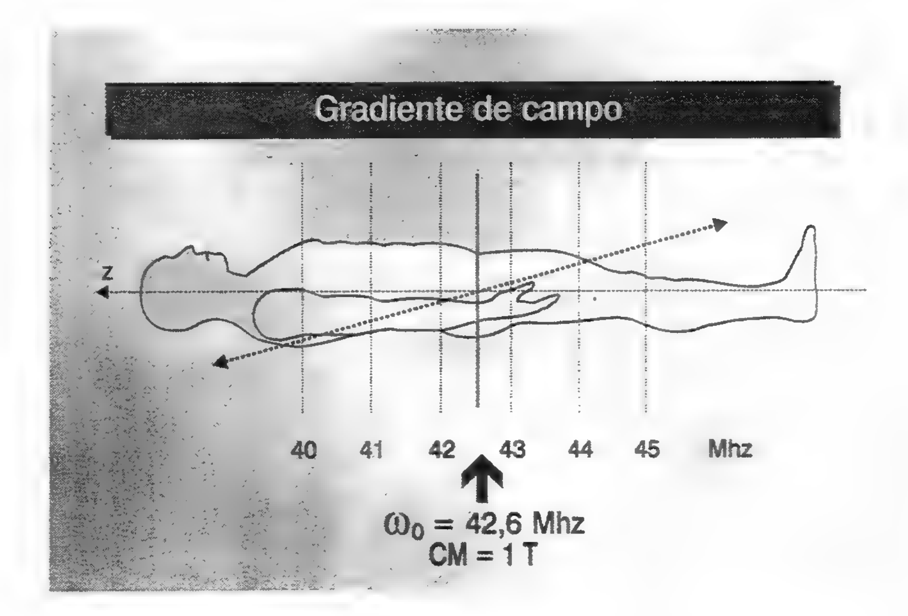
Posteriormente, hay que independizar la señal que proviene de cada voxel del corte, para asignarle finalmente un tono de gris.



Para comprender el proceso de formación de la imagen debemos recordar la relación entre la frecuencia de resonancia (frecuencia de precesión de los protones) y la intensidad del campo magnético. Podemos lograr que los protones dentro de la muestra tengan diferentes frecuencias de resonancia según su posición, haciendo que el campo magnético no sea constante en todo el volumen de la muestra.



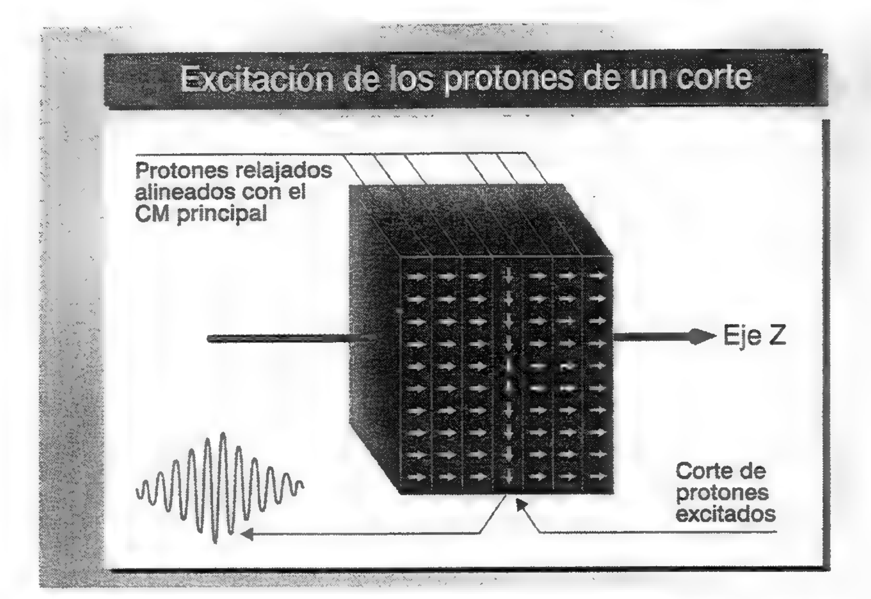
Este ejemplo representa cómo el valor del campo magnético varía según el eje z. La mayor densidad de líneas de campo a la derecha (líneas más apretadas) significa que el campo es mayor, y también lo es la frecuencia de resonancia. Esta variación del campo con la posición se logra mediante bobinas adicionales denominadas bobinas de gradiente, cuyo campo magnético se suma al campo magnético principal, o B_0.



Se llama gradiente a la variación de una magnitud con la distancia. En la figura, la existencia de un gradiente de campo magnético (representado por la línea roja discontinua) según el eje z implica que el campo magnético, y por tanto la frecuencia de resonancia, varían según dicho eje. En el centro (z = 0) el campo es exactamente de 1T (frecuencia de precesión de aproximadamente 42,6Mhz). Hacia la derecha del origen (hacia los pies del paciente) las frecuencias de resonancia son progresivamente mayores, y al contrario hacia la izquierda.

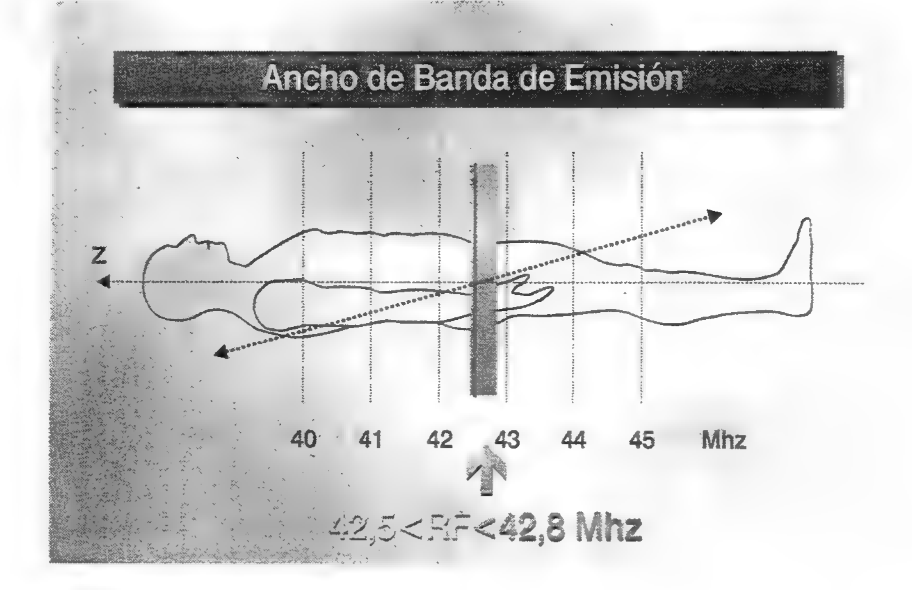
54

Parte VI FORMACIÓN



En este esquema se intenta representar de una manera gráfica cómo el pulso de RF excita (inclina 90º) los protones de una loncha determinada. Los protones adyacentes no son excitados al no coincidir la frecuencia de la RF con su frecuencia de precesión.

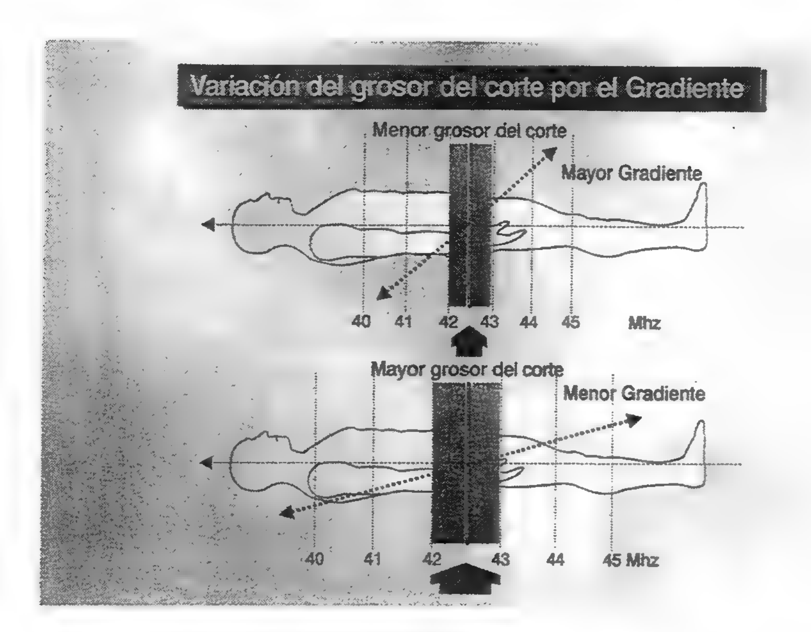
Activando de manera combinada dos o más bobinas de gradientes, el CM puede variar en cualquier dirección, y el plano activado puede orientarse en cualquier dirección del espacio. En estos ejemplos, para una mayor simplicidad, únicamente se representan planos axiales (aplicación de gradiente en el eje z) y la FID o eco que provienen de este corte. La intensidad de la señal dependerá de la densidad de protones de la muestra, de los parámetros de relajación y de la secuencia utilizada.



Los pulsos de RF no contienen una sola frecuencia sino un rango de frecuencias. Este rango puede seleccionarse por el operador, determinando el grosor de la loncha. Cuanto mayor sea el rango de frecuencias, mayor será el grosor del corte. A esto se le denomina **ancho de banda de emisión**.

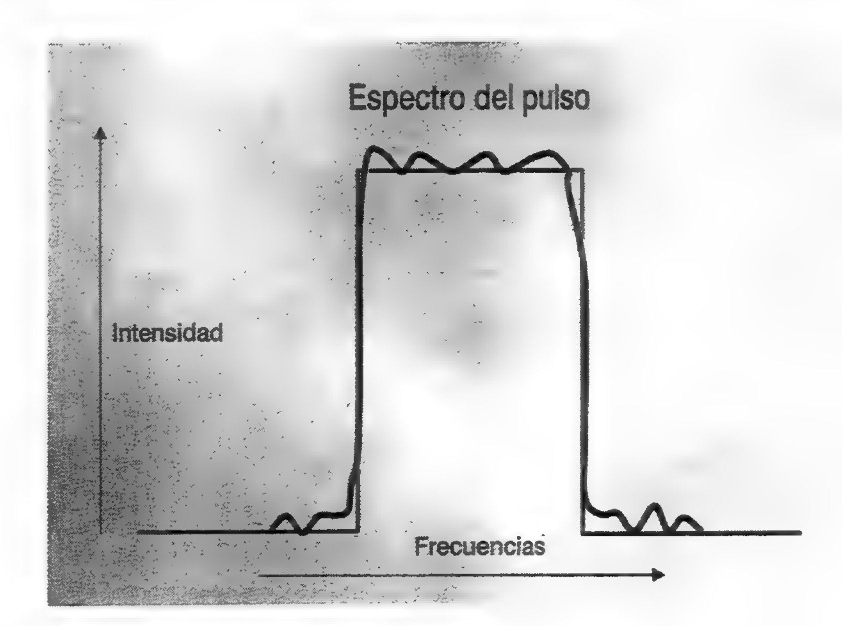
En el ejemplo, la gama de frecuencias comprende desde los 42,5 hasta los 42,8 MHz.

La localización o posición del corte se selecciona haciendo coincidir las frecuencias del pulso de la RF con las frecuencias de precesión de la loncha que queremos excitar.



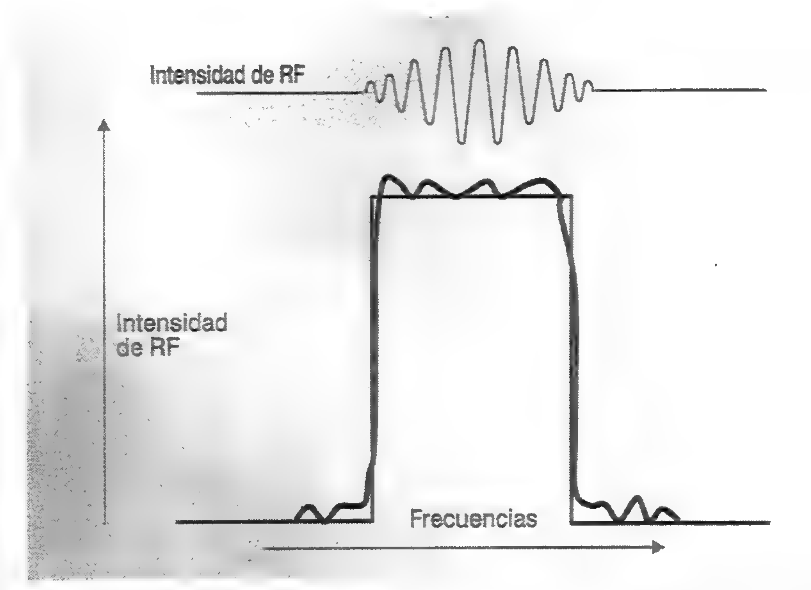
Ya hemos visto cómo el grosor del corte depende de la gama de frecuencias del pulso de RF.

Pero también depende de la intensidad del gradiente. Un gradiente intenso viene representado por una línea inclinada con mucha pendiente que, a igualdad de rango de frecuencias (ancho de banda) del pulso, produce un corte más fino, ya que la distancia entre los protones que tienen distinta frecuencia de precesión es mayor. Por el contrario, un gradiente menos intenso, representado por una línea con menos pendiente, generará un corte más grueso.

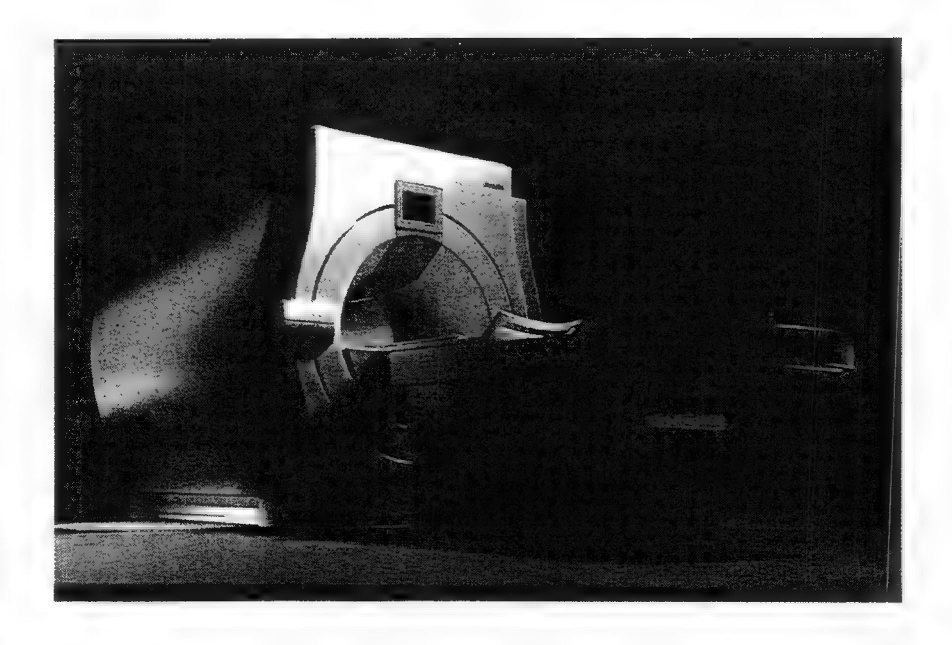


Los cortes o rodajas tendrían unos bordes perfectos si el pulso de RF contuviera exactamente las frecuencias de los protones del corte. En la práctica esto es imposible, siempre hay algunas frecuencias "de más", por lo que las rodajas no tienen bordes nítidos. Esta es una de las razones por las que se utiliza una cierta separación entre las rodajas (*"gap"*), para que no se superponga la información de un corte con la del contiguo.

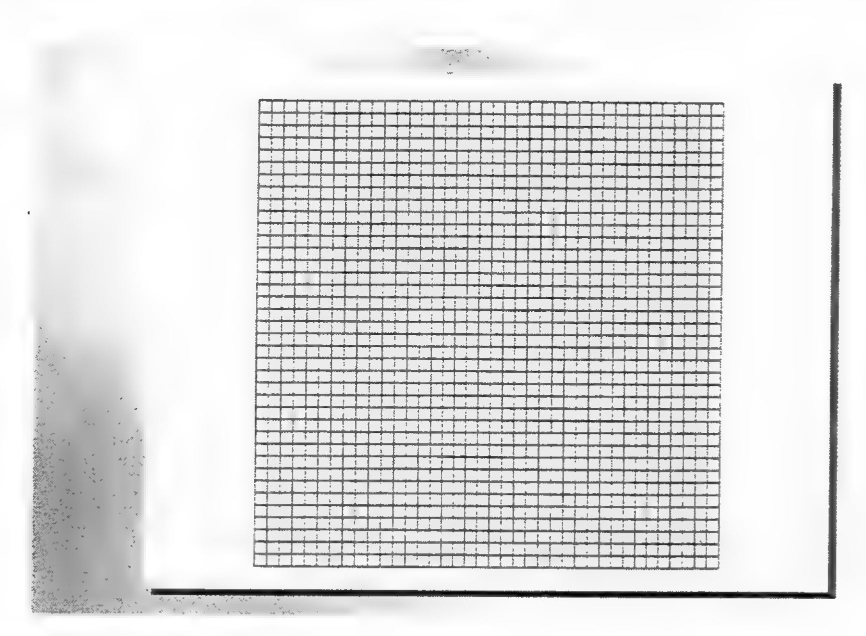
55



Esta figura representa de nuevo el contenido de frecuencias del pulso de RF, así como la forma real del mismo. Como vemos, es una oscilación amortiguada, cuya envolvente determina el ancho de banda. Circuitos electrónicos se encargan de "diseñar" a medida los pulsos para darles el contenido de frecuencias que se desee.

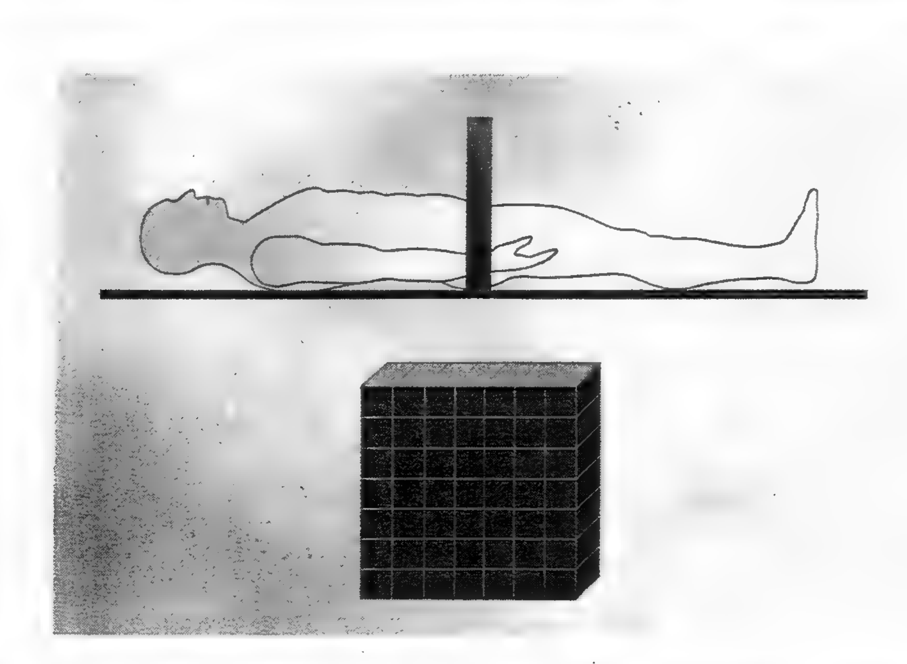


Moderno tomógrafo de resonancia magnética



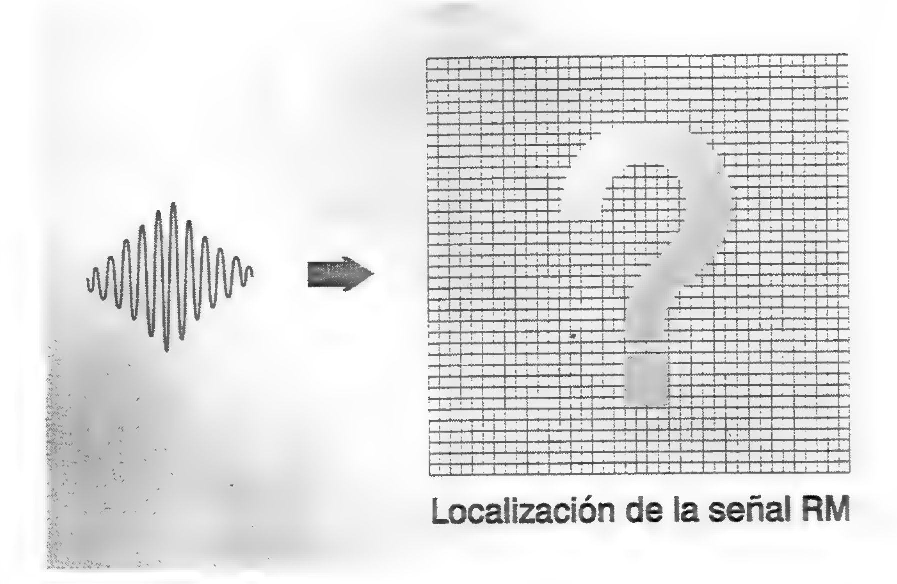
Las imágenes digitales, y por tanto las de RM, se construyen como un conjunto de "píxeles" (acrónimo formado por la contracción de las palabras inglesas *"picture element"*, o elemento de imagen). **Dicho conjunto de "píxeles" se denomina matriz.** El tamaño de matriz más habitual en RM es de 256x256 píxeles. Tamaños mayores, como 512x512 o hasta 1024x1024 se pueden alcanzar con ciertas secuencias rápidas, aunque son poco utilizados.

Naturalmente el número de elementos de la matriz condicionará la resolución. Cuantos más elementos o píxeles contenga la imagen mayor será su resolución.



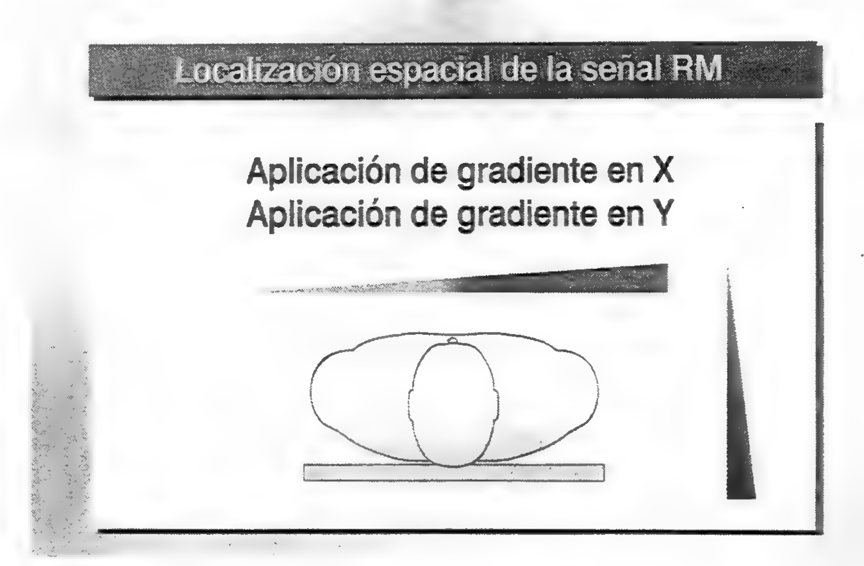
Aunque es frecuente pensar que la imagen es plana, en realidad corresponde a un volumen, dado por el espesor del corte, como vimos anteriormente. Por ello también es muy frecuente hablar de "vóxeles" (acrónimo formado por la contracción de las palabras inglesas *"volume element"*, o elemento de volumen) en vez de píxeles, para recordar que en realidad los elementos de imagen son pequeños cubitos de profundidad el grosor de corte, en 3 dimensiones.

56



Hasta ahora hemos visto cómo es posible seleccionar una rodaja, ajustando el ancho de banda del pulso de RF y la localización del corte.

Las señales que emita un determinado corte, sean FID o ecos, contienen la suma de contribuciones de todos los vóxeles del corte. Para reconstruir la imagen es necesario ser capaz de separar la información de cada vóxel (una imagen contiene de 50.000 a 250.000 vóxeles).



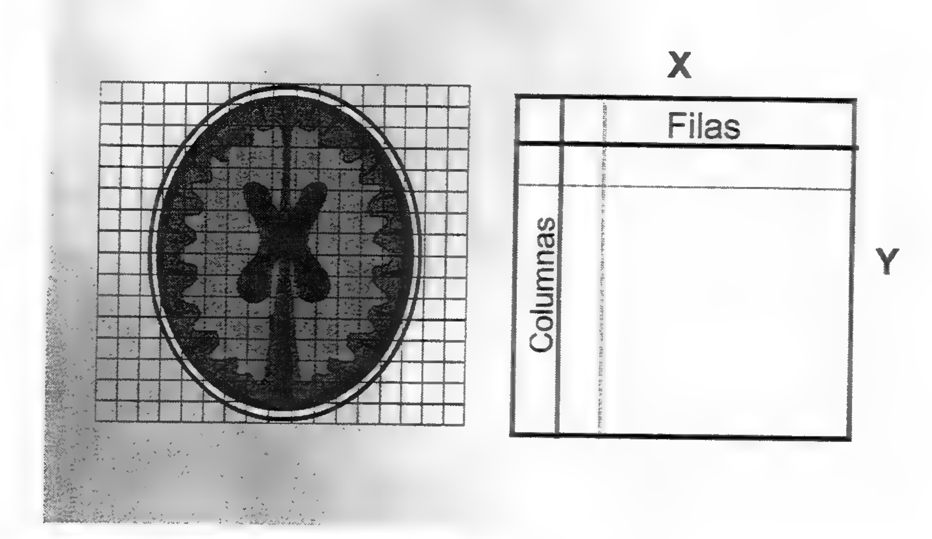
La identificación de la información correspondiente a cada vóxel de una imagen se logra mediante la aplicación de gradientes horizontales y verticales.

Estos gradientes determinarán variaciones del campo magnético, y por lo tanto de la frecuencia de precesión a lo largo del corte, que se aprovecharán para reconstruir la imagen según los ejes X e Y.

La separación de la información según el eje Z viene dada por el proceso de selección de corte, antes estudiado.

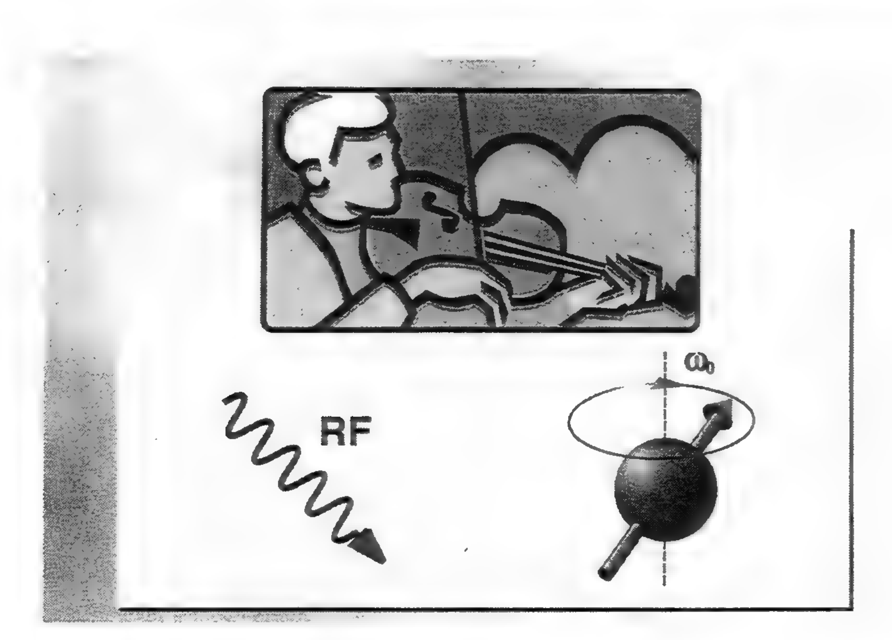
57

Parte VI FORMACIÓN DE LA IMAGEN



La aplicación del gradiente X trae como consecuencia que cada columna del corte precese a una frecuencia diferente, y lo mismo podemos decir del gradiente Y respecto a las filas. Estos cambios en la frecuencia de precesión se mantienen durante el tiempo que los gradientes están conectados. Cuando se desconectan, la frecuencia de precesión vuelve a ser la misma en todo el corte. Esta forma de aplicar los gradientes se denomina "pulsos de gradiente".

Veremos que mediante pulsos de gradiente vamos a poder dividir el corte en píxeles. Este proceso, un tanto complejo, nos obliga a introducir algunos conceptos adicionales, como el de "frecuencia espacial".

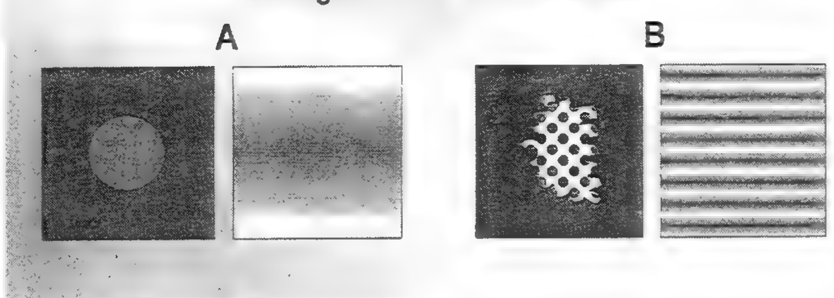


El concepto de frecuencia representa la velocidad de oscilación de un determinado fenómeno con el tiempo. Por ejemplo, la rapidez de la oscilación de la presión del aire determina si un sonido se percibe como grave (frecuencia baja) o agudo (frecuencia alta). Venimos utilizando este concepto para las frecuencias de precesión (número de vueltas por segundo de los núcleos atómicos) o para las frecuencias de RF (número de oscilaciones por segundo de la intensidad de campo electromagnético).

Descomposición de un objeto en sus frecuencias espaciales

Frecuencia Espacial

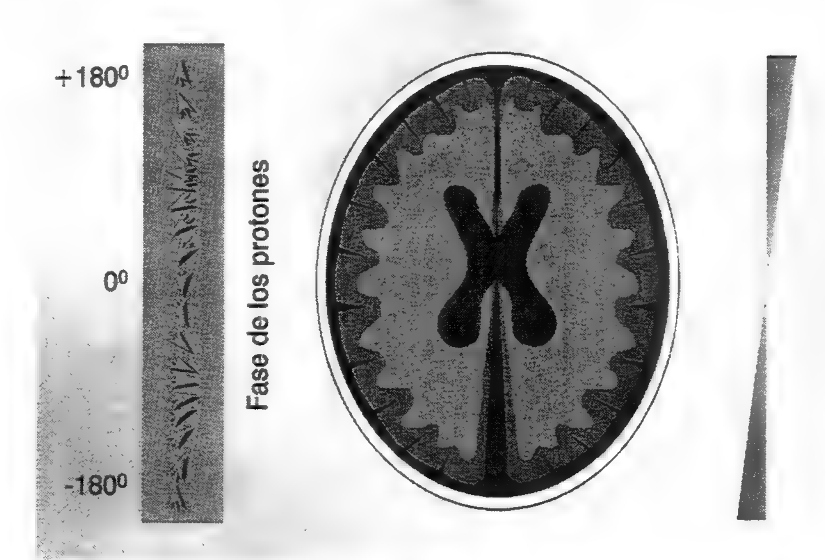
Velocidad con la que varía el brillo de la imagen en una cierta dirección



Una extensión del concepto de frecuencia es el de "frecuencia espacial", que representa la velocidad de variación de alguna propiedad según una dirección del espacio.

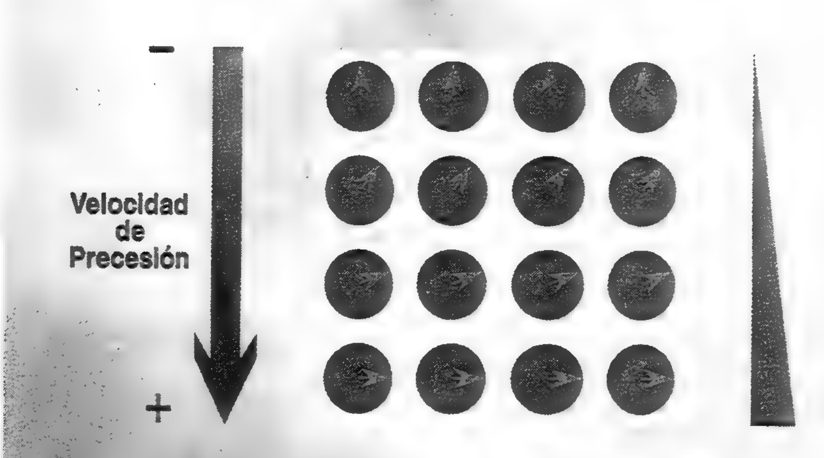
En imágenes hablaremos la velocidad de cambio del brillo o nivel de gris, que definen los bordes y la textura del objeto.

Los detalles del objeto (o de una imagen) tienen frecuencias espaciales altas (B) (el nivel de gris cambia muy rápido en poco espacio), y las estructuras homogéneas (A) tienen frecuencias espaciales bajas (el mismo nivel de gris se continúa a lo largo de muchos vóxeles).



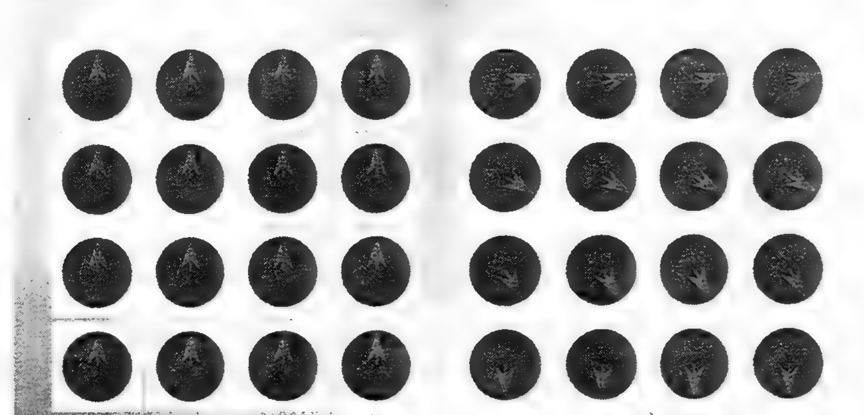
En IRM al aplicar un pulso de gradiente (superficie roja) producimos una variación de la fase de los protones que componen la muestra (en la figura, una rodaja axial del cerebro) según la dirección de dicho gradiente. En este caso el gradiente de codificación de fase se aplica en sentido vertical.

Ajustando la intensidad del gradiente podemos lograr "retorcer" la fase a lo largo de la muestra. Esto nos permite explorar sus frecuencias espaciales. En este ejemplo los protones muestran un desfase de 360º en la dirección vertical del corte. Veremos más adelante que la amplitud de la señal emitida (FID o eco) se corresponderá con la intensidad de frecuencias espaciales que corresponden al "retorcimiento" de fase introducido.

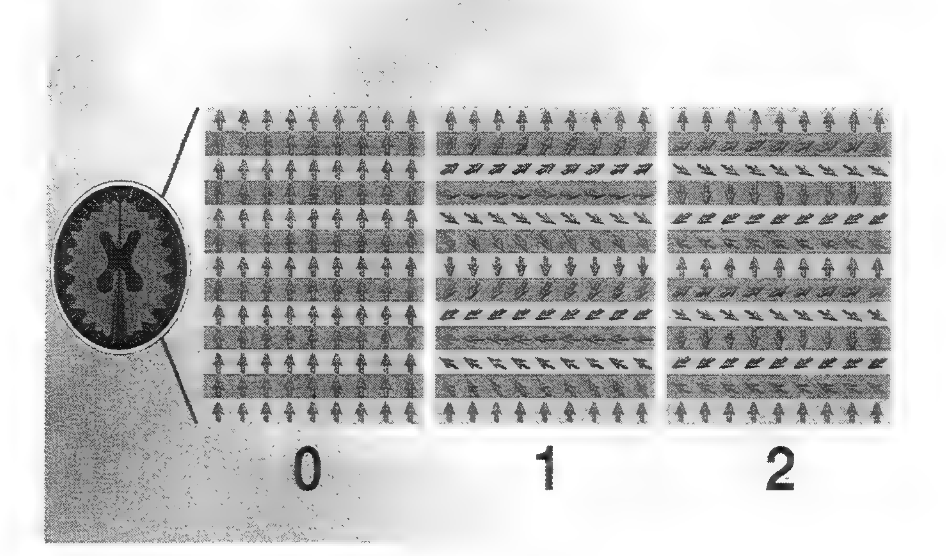


Durante la aplicación del gradiente, los protones que perciben un campo magnético más intenso precesan más rápidamente. Esto sucede de arriba hacia abajo en la loncha. Los protones de las filas inferiores van ganado fase.

Parte VI
FORMACIÓN

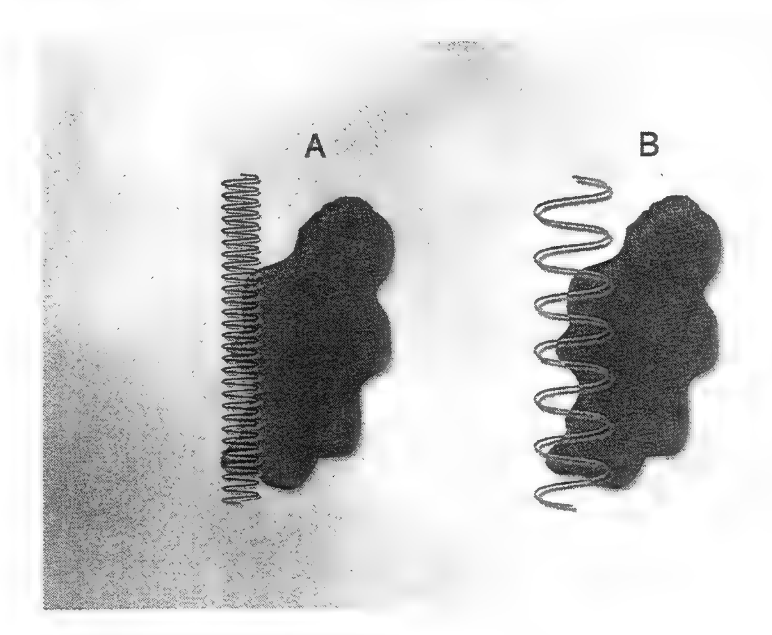


Antes de la aplicación del gradiente todos los protones precesan con la misma frecuencia y fase. La frecuencia de precesión cambia mientras se está aplicando el gradiente. Cuando éste se desconecta los protones vuelven a precesar a la misma frecuencia pero con distinta fase (cada fila, de arriba hacia abajo, ha ganado fase progresivamente).

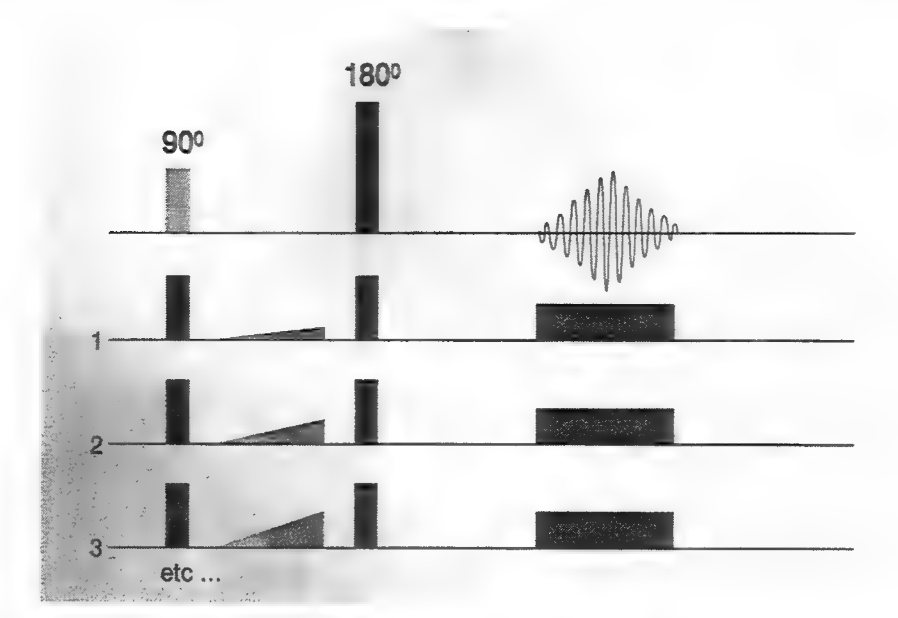


Variando la energía del gradiente (área del pulso de gradiente) introducimos diferentes desfases, conocidos como "codificaciones de fase". En la codificación de fase "0" (cero) no existe desfase y la muestra emite su señal de frecuencia espacial cero, que es la suma promediada de todos los vóxeles. En la codificación de fase "1" la fase de los protones da una vuelta completa (360º) de un extremo a otro de la muestra, dos vueltas en la codificación de fase "2", y así sucesivamente.

La introducción de las distintas codificaciones de fase nos permite, por tanto, explorar las frecuencias espaciales de la muestra, siempre según la dirección del gradiente aplicado.

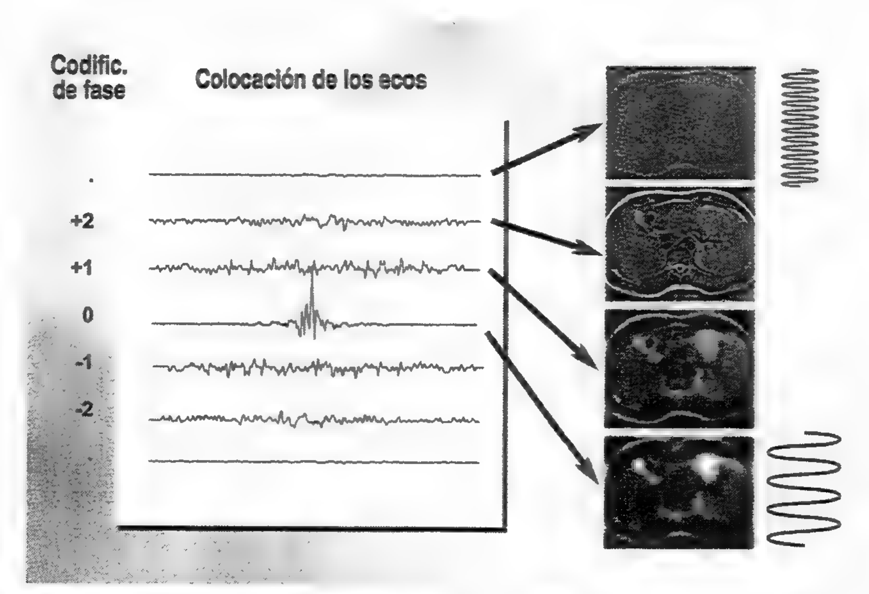


En estas figuras pretendemos insistir en el concepto de fase. En A se representa un objeto al que se ha aplicado una codificación de fase alta (onda oscilante en rojo con una frecuencia alta), y la muestra nos devolverá una señal representativa de dichas frecuencias espaciales que coincidan con la de la codificación. En B, al mismo objeto se le ha aplicado una codificación baja (onda oscilante en verde con una frecuencia baja). De esta manera se puede intuir como las frecuencias altas analizan el detalle (análisis fino del contorno) y las frecuencias bajas analizan el contraste (diferencia grosera de colores).

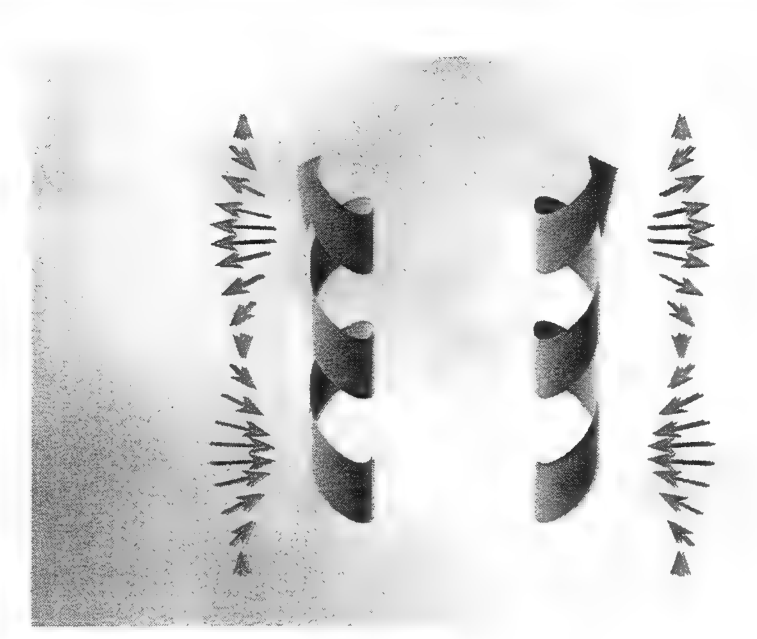


En este diagrama temporal de una secuencia SE se representan los pulsos de 90º y 180º con los respectivos gradientes de selección de corte (rectángulos azules). Entre ambos se aplica el gradiente de codificación de fase (triángulo rojo). Cada eco tendrá una codificación de fase diferente (por eso el gradiente representado por un triángulo rojo varía en cada ciclo). Durante la lectura del eco se aplica el gradiente de codificación de frecuencia (rectángulo gris).

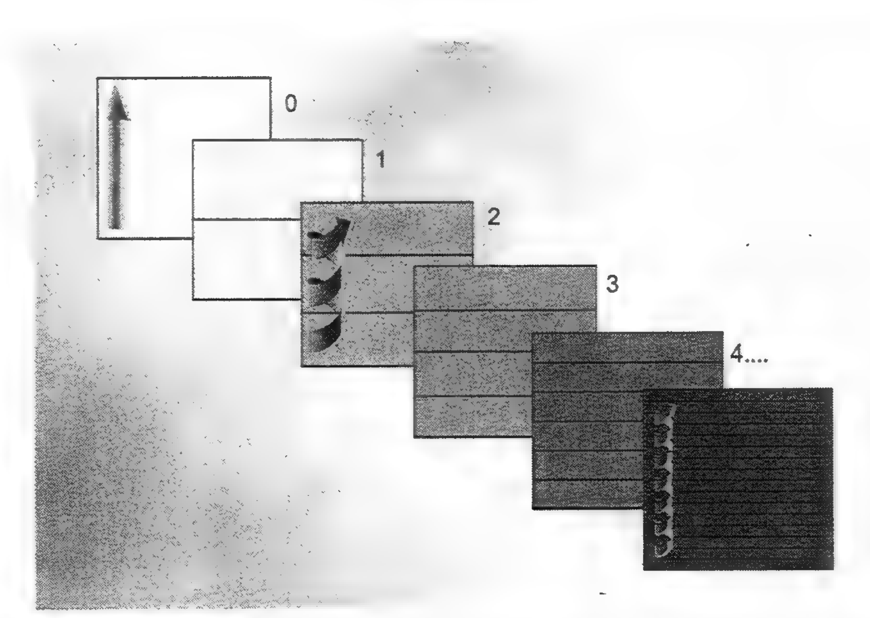
¿Cuantas codificaciones de fase hay que aplicar? Tantas como líneas tenga la matriz. En una matriz de 256x256, en principio, hay que aplicar 256 codificaciones: desde la -127 hasta la +128, pasando por la codificación 0.



Por convención, los ecos se ordenan en una matriz de datos crudos (no confundir con la matriz de imagen) como muestra la figura: el eco de codificación de fase 0 se coloca en el centro, en la parte superior se colocan los ecos con una codificación de fase positiva (+1, +2, +3, ...+128) y en el otro lado los de fase negativa (-1, -2, -3, ... -127). **Está usted empezando a conocer el espacio K.** También se observa el nivel de detalle y de contraste en la imagen. Los ecos ubicados en el centro contienen frecuencias bajas y su imagen tiene mucho contraste y poco detalle (imagen emborronada). Los ecos extremos contienen frecuencias altas, y la imagen tiene detalle fino y poco contraste. Cuanto más alta sea la codificación de fase mayor será el detalle y menor el contraste. Obsérvese cómo cuanto mayor es la codificación de fase (ecos colocados hacia los extremos), más débil es la señal del eco.



Las codificaciones de fase positivas y negativas son un espejo una de la otra. Por ejemplo la codificación de fase +20 y la -20 son iguales, salvo que los protones se han desfasado en sentido contrario. Si nos fijamos en la figura anterior, los ecos con codificación de fase igual pero de distinto signo son simétricos; las imágenes son iguales y representan el mismo nivel de detalle y contraste.



Queremos insistir en el hecho de que cada eco tiene información de toda la imagen. Con frecuencia se cree erróneamente que cada codificación de fase representa una línea de la imagen final. No es cierto, cada eco contribuye con información de toda la loncha. En el dibujo se representan codificaciones de fase diferentes, empezando por la codificación de fase 0 y finalizando en una codificación de fase alta. Se puede observar cómo se explora la imagen "por bandas". Las codificaciones bajas parten la imagen en bandas gruesas, mientras que las altas actúan dividiendo el corte en finas bandas horizontales.

La imagen final será la "suma" de todas las "imágenes" producidas con distintas codificaciones de fase. De manera intencionada los cuadros son progresivamente más oscuros, queriendo representar la menor intensidad de la señal del eco cuanto mayor es la codificación de fase.

Codificación de Fase

Codificaciones extremas (mucho desfase)

Detalle fino

Ecos débiles

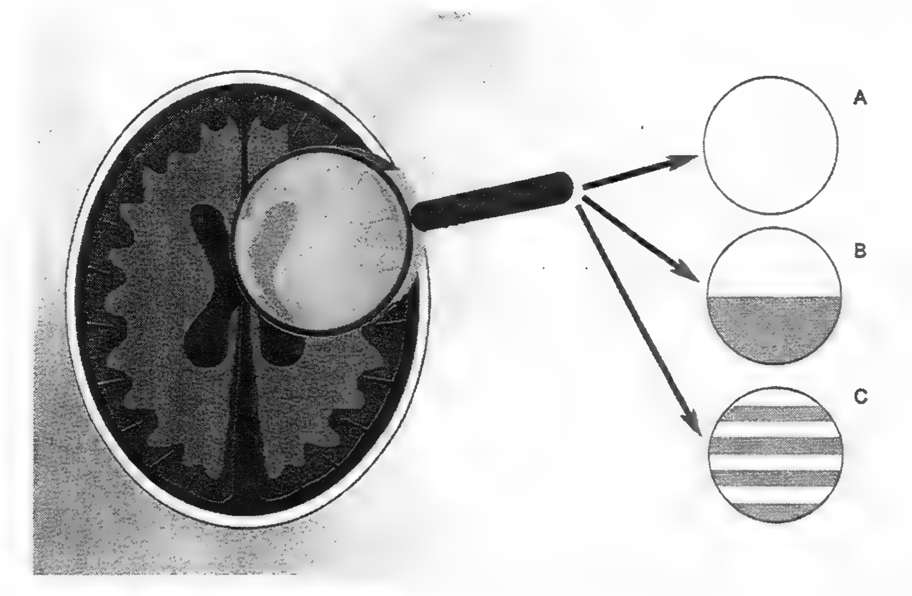
Codificaciones centrales (poco desfase)

Contraste

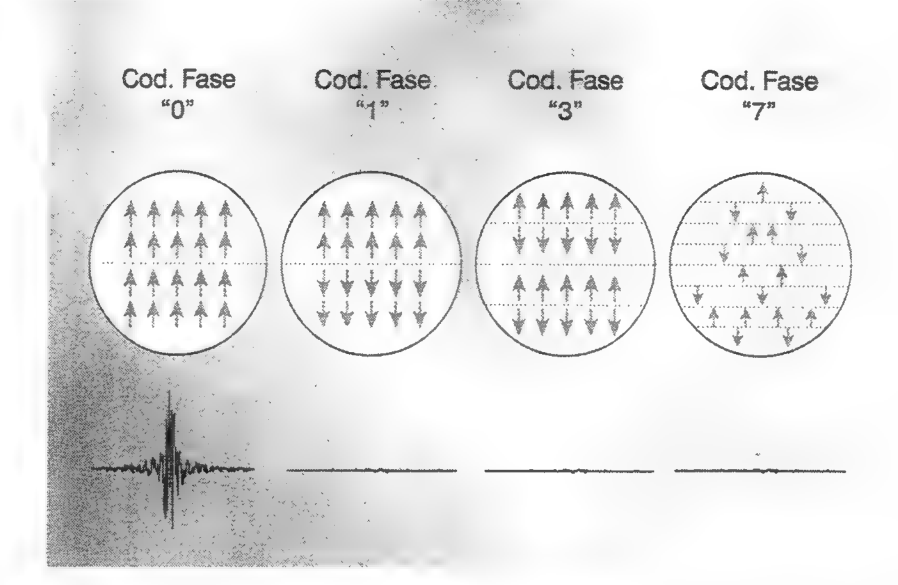
Ecos fuertes

En resumen, es importante recordar que los ecos con las codificaciones de fase extremas van a formar una imagen que muestra el detalle fino, pero son muy débiles.

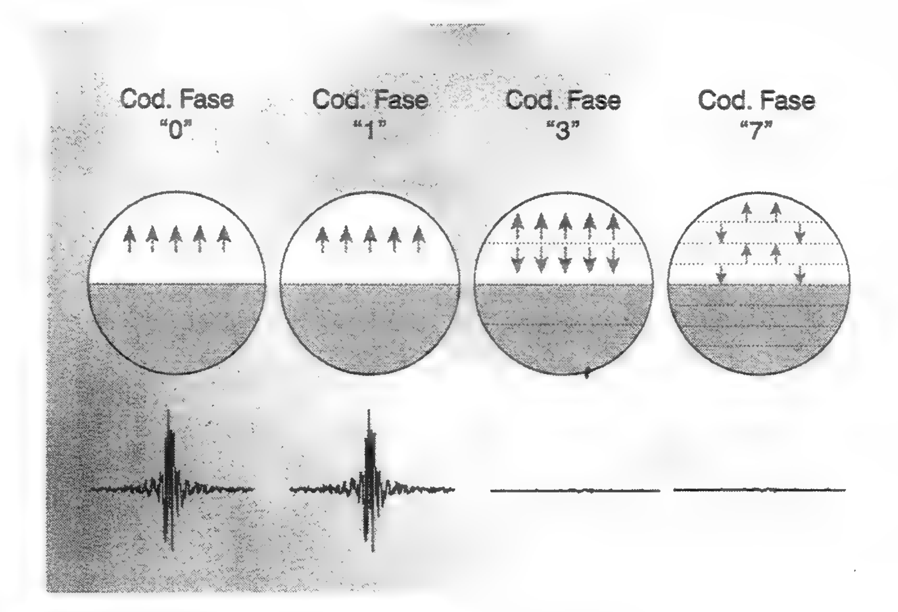
Los ecos con codificación de fase 0 y, en general, los que están colocados en la zona central, contienen el contraste de la imagen, y son intensos.



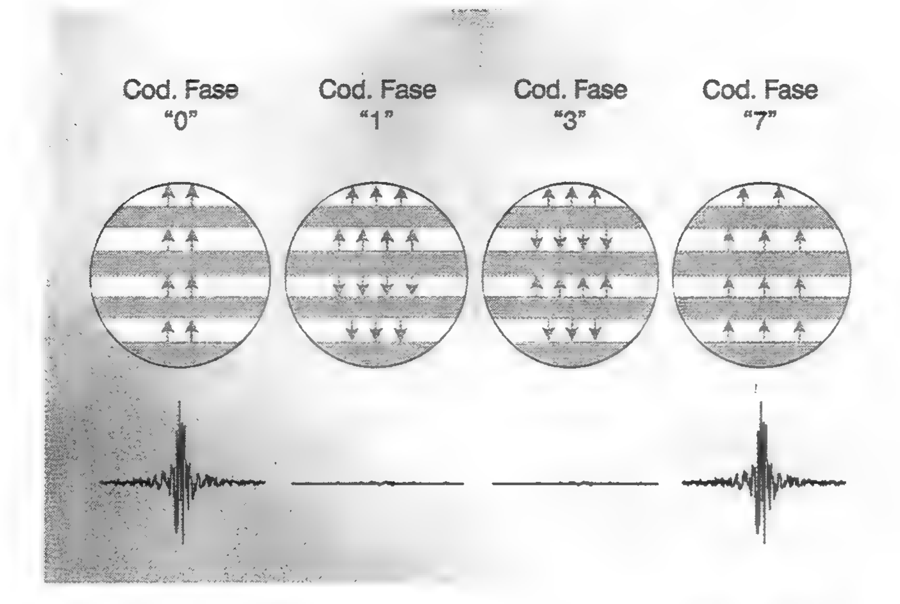
En las siguientes figuras vamos a explicar de modo intuitivo por qué la introducción de codificaciones de fase ("retorcer" la fase dentro de la muestra) equivale a leer las diferentes frecuencias espaciales de la muestra. El esquema representa un objeto cualquiera observado mediante RM, del cual mostramos un detalle ampliado. Consideraremos tres posibilidades: A) la zona brilla homogéneamente, B) la zona tiene una transición de claro a oscuro y C) la zona tiene varias bandas alternativamente brillantes y negras. Recordemos que A) tendría frecuencia espacial cero mientras que B) y C) presentan frecuencias espaciales progresivamente mayores. Recordemos también que cualquier área de la imagen puede ser descompuesta en una suma de elementos como A), B) y C).



En esta figura vemos lo que ocurre en una zona homogénea al aplicar diferentes codificaciones de fase: con la codificación cero todos los protones apuntan en la misma dirección (no presentan desfase), sumándose su efecto para producir la señal que corresponde a la frecuencia espacial cero. Cualquier otra codificación de fase trae como consecuencia que la mitad de los protones de la muestra se anulen con la otra mitad, anulando la señal. Recordemos que una zona homogénea tiene frecuencia espacial cero

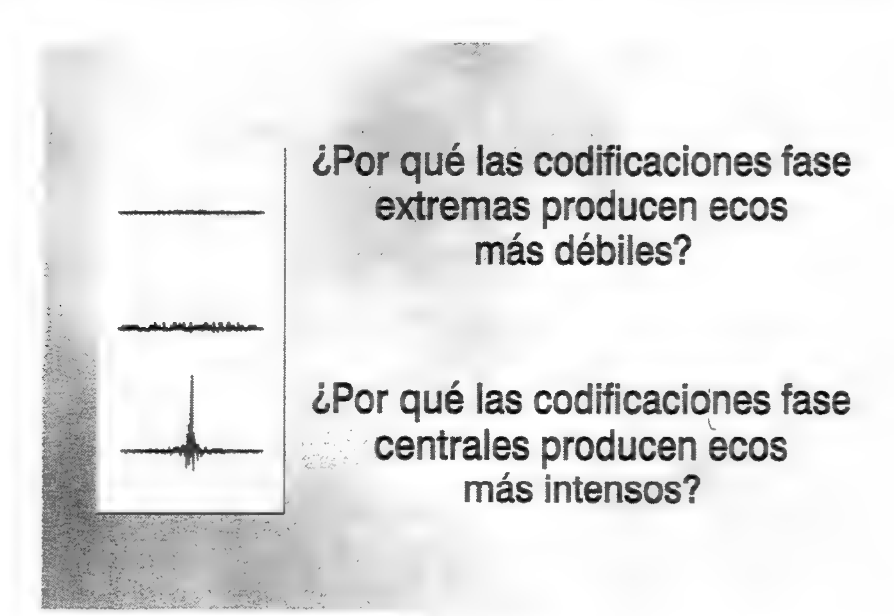


Una determinada zona de una estructura heterogénea compuesta por dos sustancias: una brillante (un tejido cualquiera, que da señal) y otra representada en gris (calcio o aire, que no da señal). La señal de eco es máxima para las codificaciones de fase de orden 0 y 1, siendo la señal del eco nula para las codificaciones 3 y 7. Esto es debido a que la introducción de desfase anula la señal de la parte brillante, porque coloca el mismo número de protones apuntando hacia arriba que hacia abajo. El lector puede imaginar lo que sucede con otras codificaciones de fase.



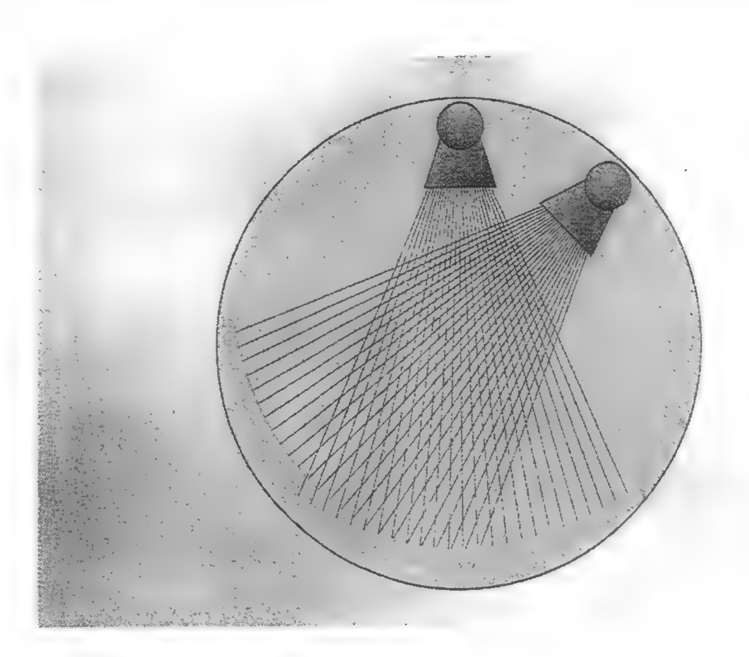
Supongamos ahora que el objeto esta estructurado en ocho tiras: cuatro brillantes (tejido) y cuatro negras (aire) alternativamente. Para la codificación de fase cero, se obtiene un eco de amplitud máxima (todos los protones de la muestra están apuntando en la misma dirección); para las codificaciones 1 y 3 se obtiene un eco nulo y para la codificación de fase 7 se vuelve a obtener un eco de amplitud máxima, puesto que las tiras en las que los protones estarían apuntado hacia abajo corresponden a la sustancia que no da señal.

Vemos cómo la señal es máxima cuando la estructura del objeto (esto es, sus frecuencias espaciales) coincide con el número de orden de la codificación de fase (número de "bandas" más uno en que se divide la muestra, línea discontínua en el esquema).



De los ejemplos anteriores se puede sacar una conclusión muy importante: las diferentes codificaciones de fase "obligan" a la muestra a emitir una señal que representa sus frecuencias espaciales.

Las codificaciones de fase de mayor orden (extremas) están explorando el detalle fino de la muestra, que siempre dará menos señal que la exploración de los objetos groseros que componen la muestra, que dan señal máxima para las codificaciones de fase centrales. Por ello se dice que los ecos correspondientes a codificaciones de fase de orden bajo dan información sobre el contraste de la muestra y que los ecos correspondientes a codificaciones de fase altas dan información sobre el detalle.

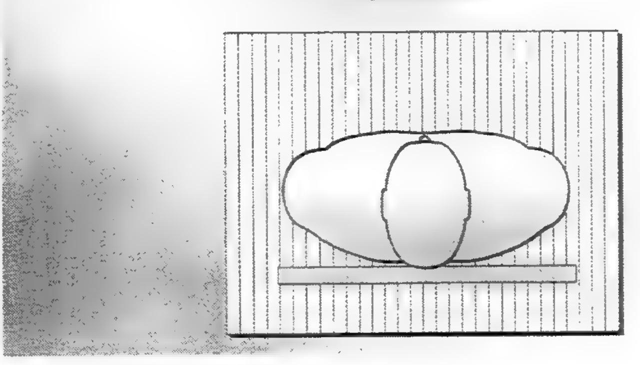


Para finalizar la codificación de fase, y en aras de una fácil e intuitiva comprensión, podemos poner un símil, en el que cada codificación de fase podría corresponder a una vista en la tomografía computarizada. En TC hacen falta muchas vistas para poder formar la imagen final, y en RM hacen falta muchas codificaciones de fase, para tener la información más completa posible tanto de contraste como de detalle del objeto.



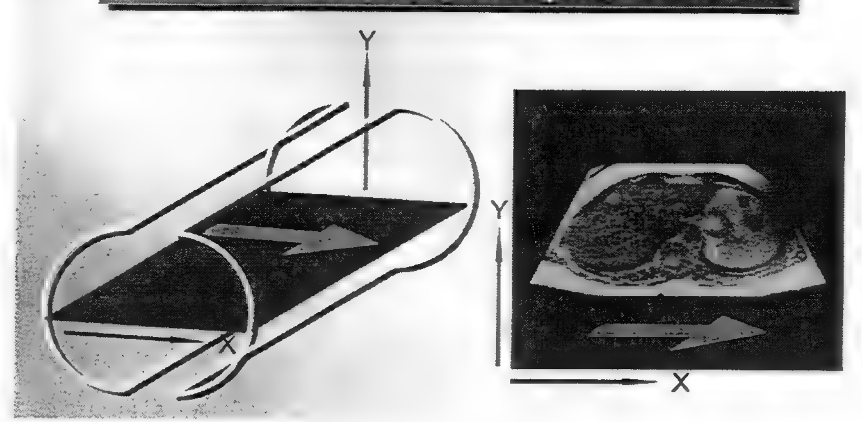
Codificación de Frecuencia

Separar la dimensión X
(Columnas)



Aplicando el gradiente de codificación de fase se han explorado las diferentes frecuencias espaciales de la muestra, pero ¡sólo en la dirección de aplicación del gradiente o eje Y!. Para cuadricular la muestra en píxeles, es necesario aplicar otro gradiente dirigido según el eje X y dividir así el objeto en columnas.

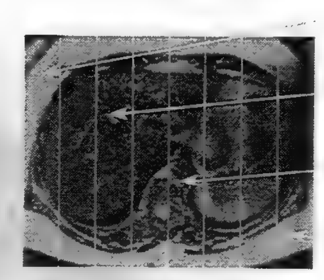
Aplicación de un gradiente de lado a lado del paciente

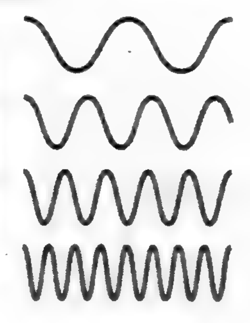


Por convención se toma como eje Y el que recorre la dirección vertical del corte y como eje X el que recorre el corte de izquierda a derecha. Para dividir la imagen en columnas hay que aplicar un gradiente que haga variar el campo magnético según el eje X. Los ejes X e Y se toman siempre relativos al corte, no respecto al túnel de la máquina o a las antenas de gradiente.

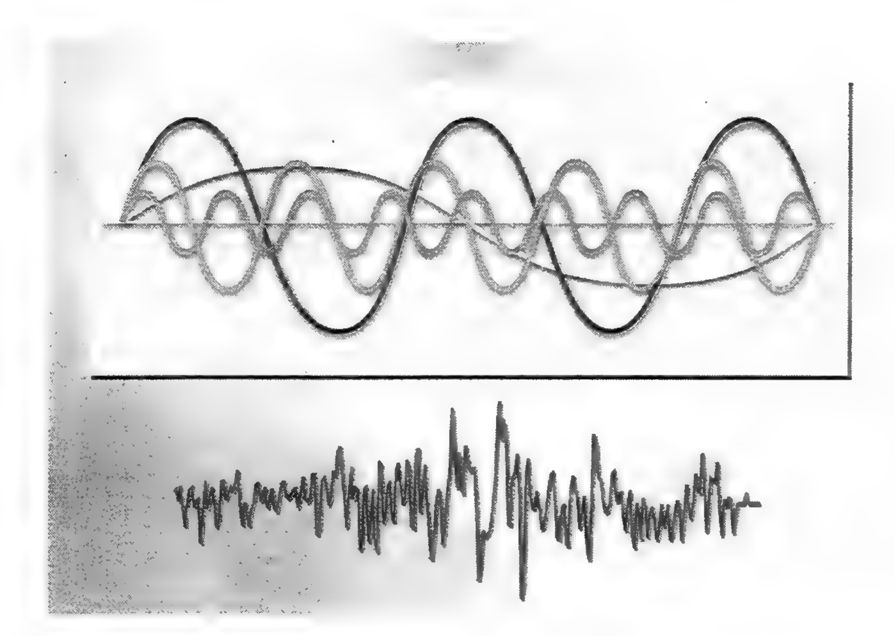
Codificación en el eje X

Las columnas de protones de un lado de la imagen precesan más despacio que las del lado contrario



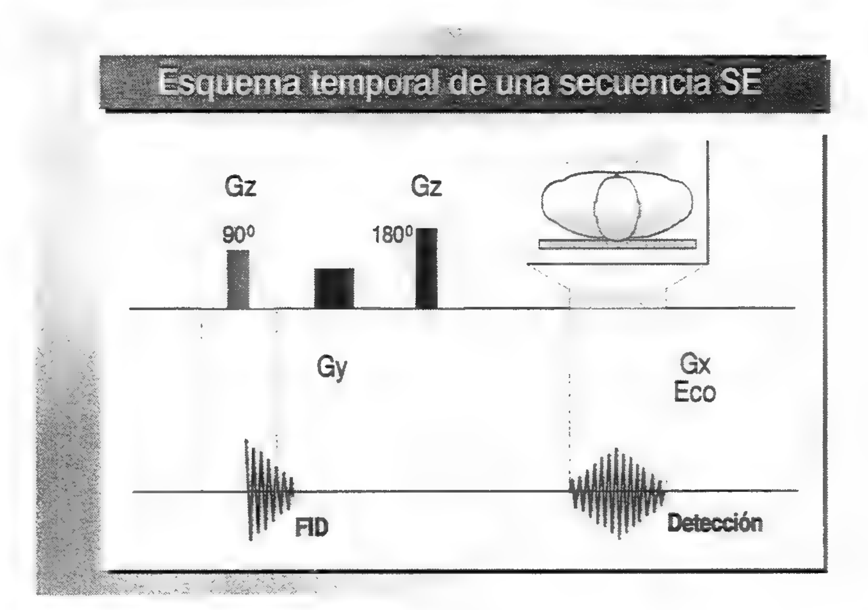


Según la ecuación de Larmor la frecuencia de precesión es proporcional al campo magnético que experimenta cada protón. La aplicación de un gradiente de campo se traduce en la creación de bandas a lo largo del corte, en cada una de las cuales los protones precesan a frecuencias ligeramente diferentes. La magnitud de las diferencias de frecuencia de precesión depende de la energía (área) del gradiente aplicado.



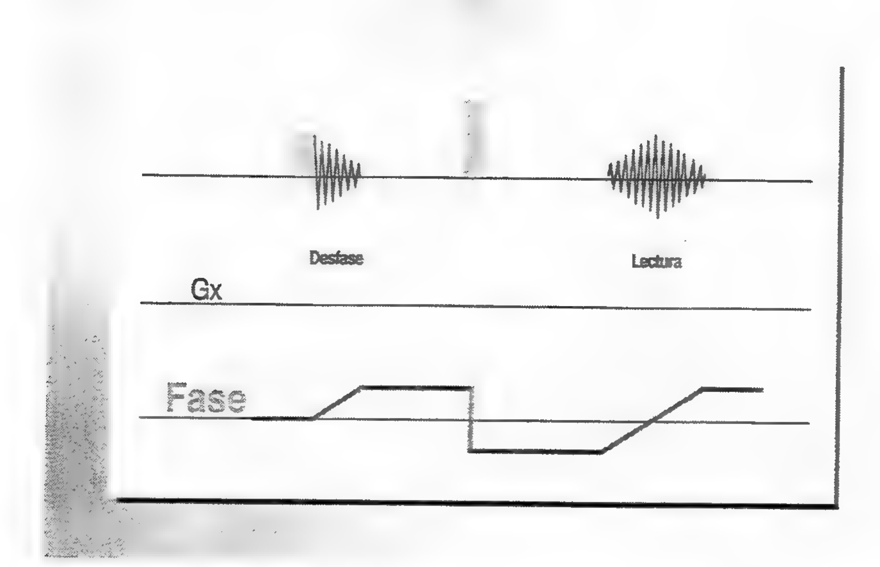
El eco que se recoge está compuesto por todas las frecuencias que emite la muestra. La descomposición de esta señal de eco en las diferentes frecuencias que contiene es lo que se conoce como Transformada de Fourier.

La localización de cada columna viene dada por la frecuencia que emita, siempre sabiendo el valor del gradiente aplicado. Los valores típicos de gradiente van desde los 10 mT/m hasta los 40 mT/m.



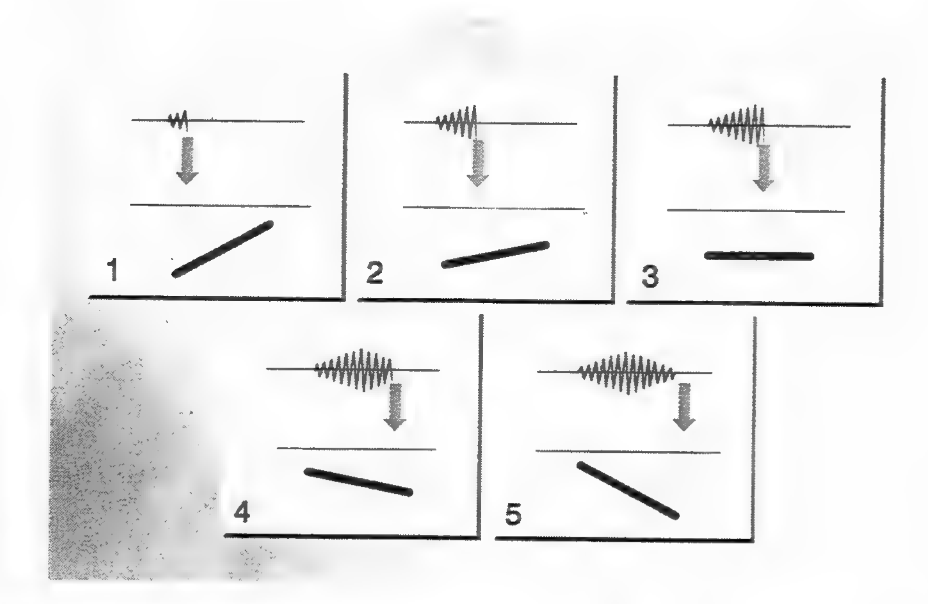
En este clásico esquema temporal de una secuencia SE, se representan en azul los gradientes de selección de corte, en rojo el gradiente de codificación de fase y en amarillo el gradiente de codificación de frecuencia o gradiente de lectura.

La única diferencia entre codificación en fase y en frecuencia es que la primera se efectúa de manera "estática", antes de la formación del eco, y la segunda se aplica de manera "dinámica", y en sentido transversal, durante la formación del eco.

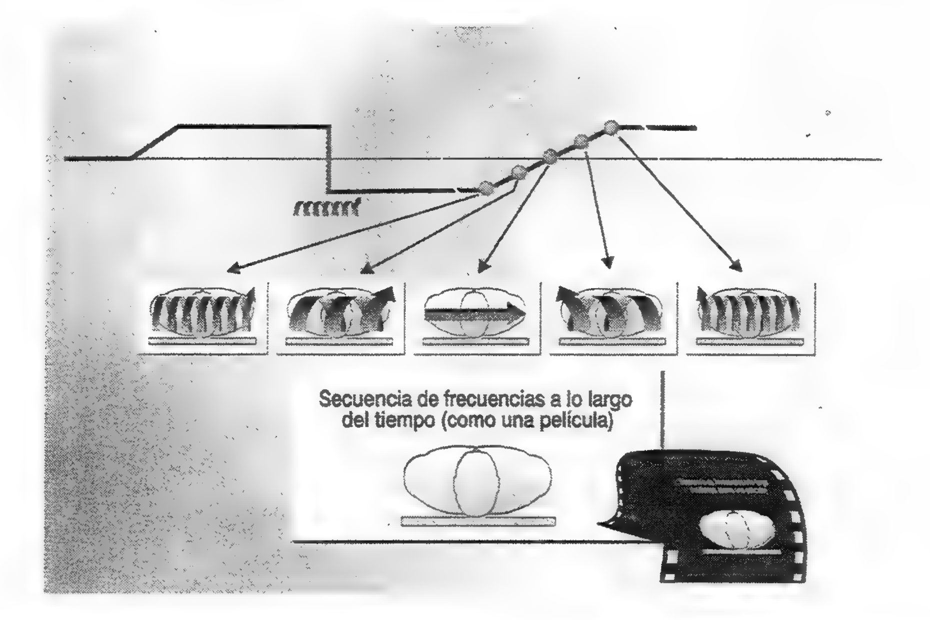


La línea verde inferior representa la evolución de la fase de los protones del corte. Con el primer pulso de gradiente se provoca un desfase inmediatamente después del pulso de 90°, este desfase se invierte con el pulso de 180° de manera que al principio de la aplicacíón del gradiente de lectura los protones presentan un desfase inicial, en el centro del gradiente de lectura el desfase es cero y la amplitud del eco es máxima, y los protones se vuelven a desfasar durante la aplicación de la segunda mitad del pulso de gradiente.

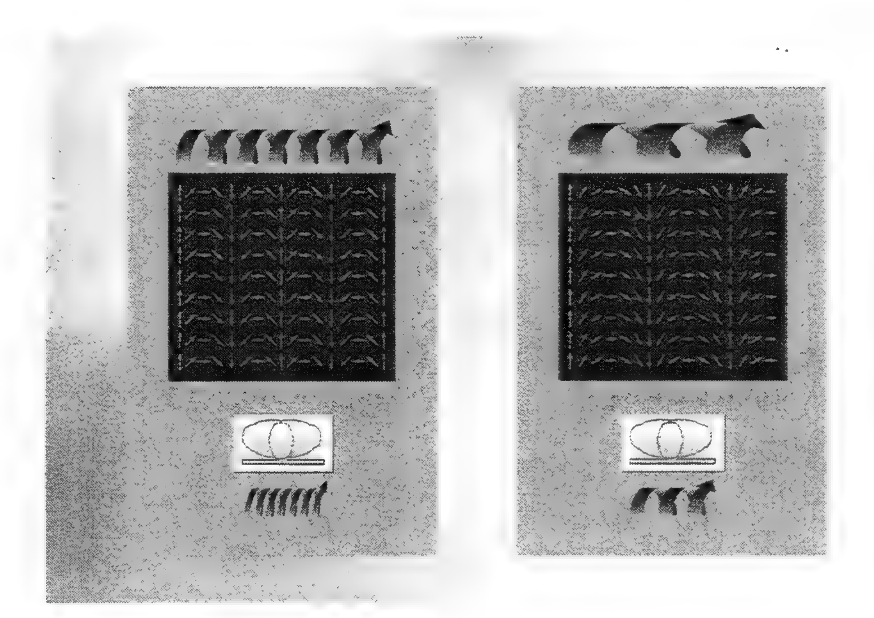
Con este esquema de aplicación de gradientes se consiguen ecos simétricos cuya amplitud es máxima en el centro.



En estos esquemas se puede ver la formación del eco a lo largo del tiempo. La línea roja representa la fase de los protones. Al principio del eco los protones están muy desfasados y contribuyen escasamente a la formación de la señal. En el recuadro número 3 se ha alcanzado el centro del eco, es el momento en el que el desfase pasa por un cero y todos los protones están contribuyendo a la formación del eco. En los recuadros 4 y 5 el desfase tiene sentido contrario pero igual magnitud que en los momentos 1 y 2.

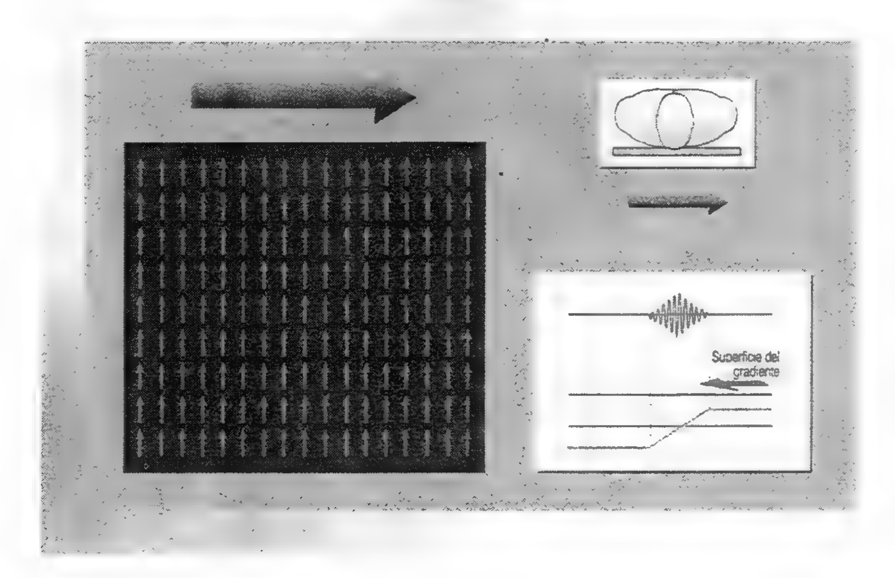


La línea verde representa de nuevo la evolución fase de los protones durante la formación del eco. Las espirales y flecha azules dejan ver el grado de "retorcimiento" de la fase a lo largo del corte según transcurre el tiempo.

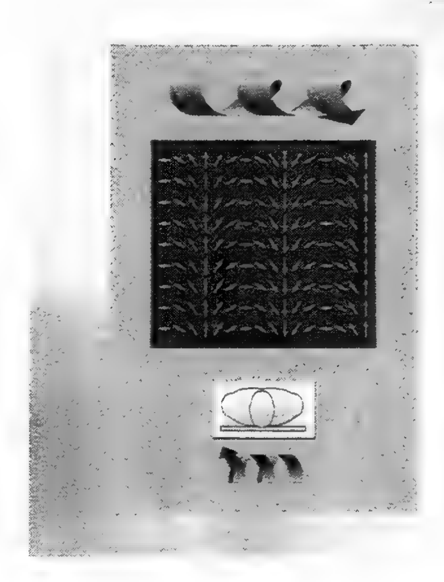
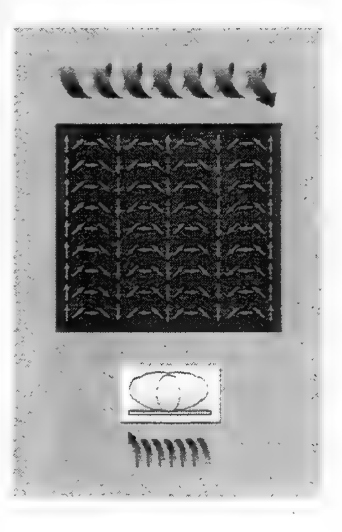


Llegados a este punto es necesario aclarar que el desfase del que se viene hablando es debido a la diferencia de frecuencias de precesión. En realidad si miramos puntos individuales del eco, es "congelar" el instante en el que están precesando a diferentes frecuencias y, en ese momento, sólo se ve una diferencia en fase.

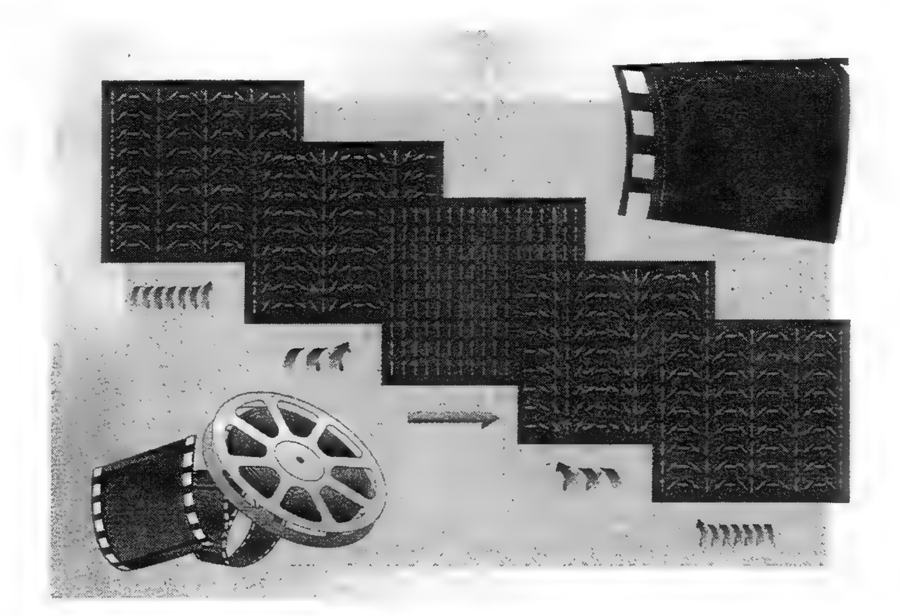
Al comienzo del eco (izquierda) el desfase es máximo y poco a poco se van refasando los protones (derecha).



Este es el instante central del eco, momento en el cual todos los protones presentan la misma fase. Para asegurar que todos los protones se encuentran en fase en dicho instante se aplica el pulso de gradiente inmediatamente después del pulso RF de 90º. De este modo se introduce un desfase controlado que asegura que, en el centro del eco, todos los protones precesarán a la misma frecuencia y con la misma fase, dando un máximo de señal.

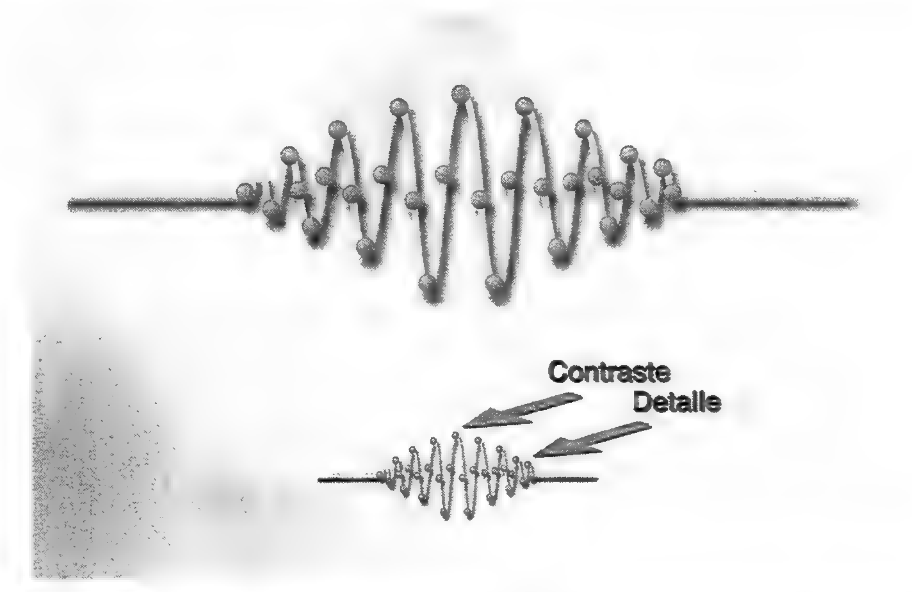
Posteriormente, en la segunda mitad del gradiente, congelando la imagen se ve la diferencia de frecuencia de precesión como una diferencia de fase. Cuanto mayor es el área (intensidad por tiempo) del gradiente aplicado, mayores son las diferencias en frecuencia de precesión entre un extremo y otro del corte. Es importante ver que la codificación de fase antes explicada (eje Y) y la codificación de frecuencia que estamos viendo ahora para el eje X son en realidad lo mismo.



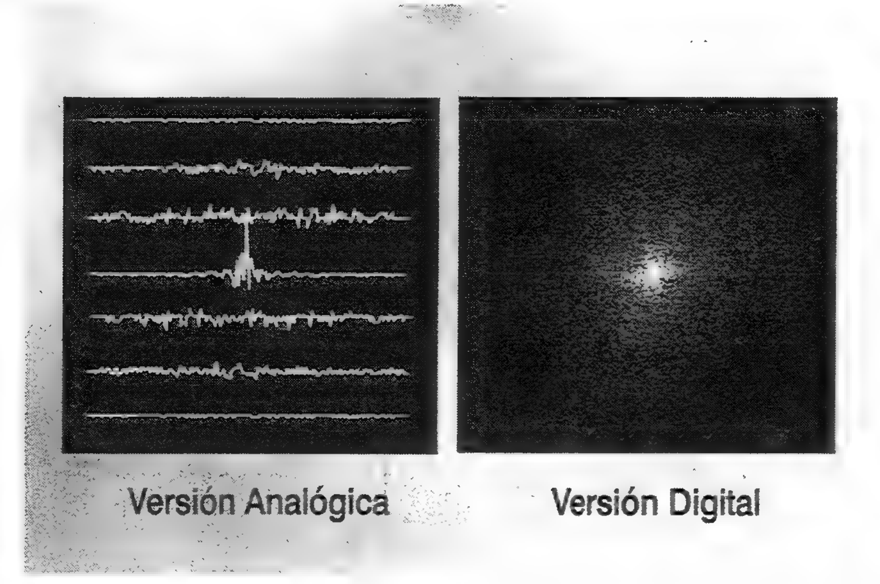
En resumen, la separación de las columnas se efectúa aplicando un gradiente en sentido transversal. En este esquema se puede ver la evolución de la fase a lo largo de todo el eco como si fuera una película (cada instante correspondería a un fotograma).

¡La información necesaria para separar todas las columnas se puede efectuar con un solo eco (en pocos milisegundos)!. El ciclo de pulsos ha de repetirse para obtener la información necesaria para separar las filas (codificación de fase). Cada uno de estos fotogramas podría corresponder con una codificación de fase según el eje Y, como vimos antes. Lo que sucede según el eje X es que se obtienen todas juntas, durante un solo eco.

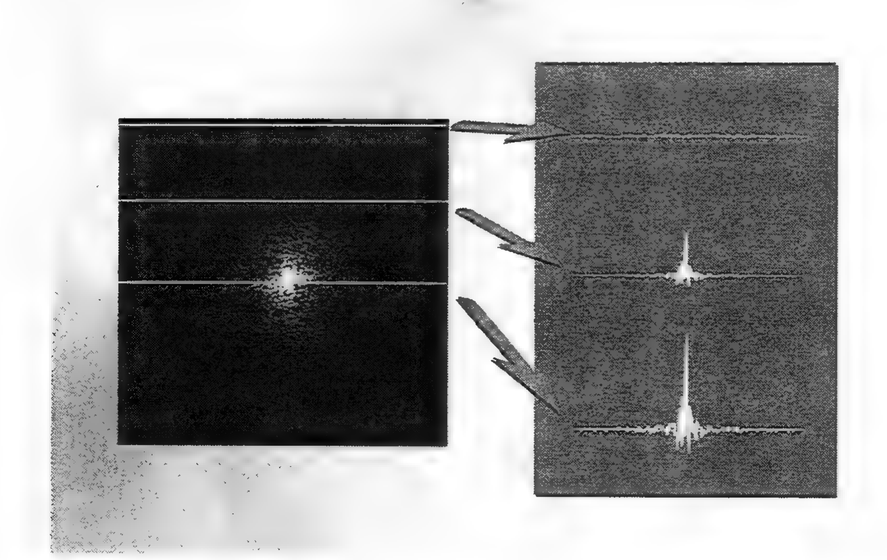




¿Cuál es la diferencia entre una señal analógica y una digital? La señal analógica es continua (línea azul) y la señal digital está formada por puntos (círculos rosa). Los ordenadores tratan con señales digitales. Para digitalizar el eco lo que se hace es muestrearlo, es decir, tomar muestras a intervalos regulares. La frecuencia de muestreo o intervalo con el que se recogen las muestras es muy importante, puesto que de ella depende que la señal digitalizada sea una reproducción más o menos fiel de la señal analógica original. Cada "fotograma" es una muestra del eco. En la imagen se pueden independizar tantas columnas como muestras obtengamos del eco. Dentro del eco, los extremos contienen el detalle (máximo desfase), mientras que la zona central (poco desfase) aporta el contraste, exactamente igual que ocurre al aplicar codificaciones de fase, como ya vimos anteriormente.

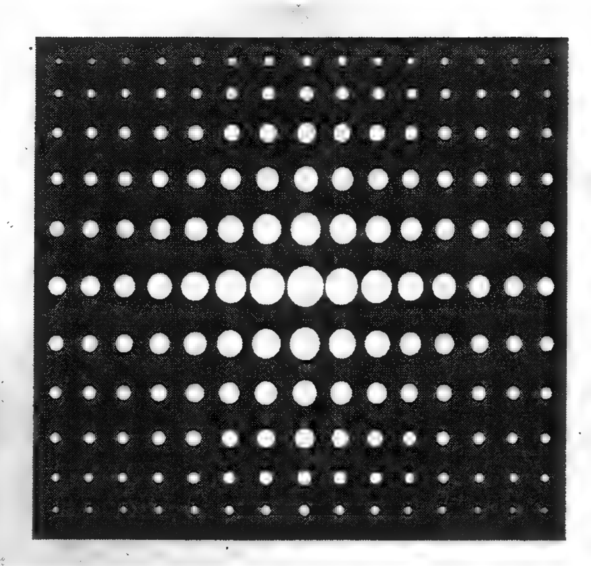


Obsérvese que el espacio K es la "versión digital" de los ecos ordenados según hemos visto anteriormente. A la derecha se muestra una imagen "verdadera" de un espacio K. Por cierto, este espacio K corresponde a la imagen de una rodilla.



Al igual que los píxeles de una imagen se representan asociados a un cierto tono de gris, los píxeles (números complejos) del espacio K también se pueden representar asociados a un tono de gris (para los que recuerden algo más de números complejos: el valor de gris corresponde al módulo de cada número).

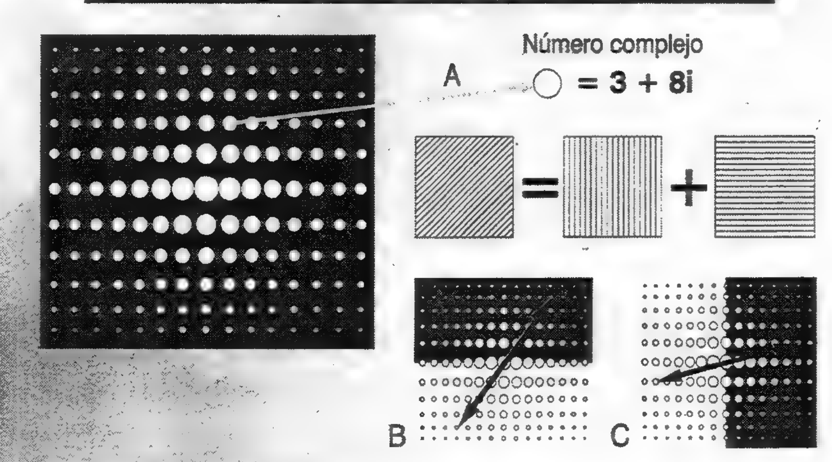
Los valores más altos del eco se representan en blanco y los más bajos en negro. El centro del espacio K siempre es la parte más brillante porque corresponde a la porción central de cada eco, que es la más intensa. En la figura de la derecha se pueden ver con detalle los ecos correspondientes a tres líneas del espacio K, el eco que forma la línea central es muy intenso, muy blanco. Los extremos de todos los ecos tienen siempre valores muy bajos, por eso todo el perímetro del espacio K es oscuro.



En esta representación esquemática del espacio K se dibuja cada línea como una sucesión de puntos (resultado del muestreo del eco). Se puede observar que los puntos centrales de cada eco, y en mayor medida los de las líneas centrales, tienen una intensidad de señal mayor (recordar la codificación de frecuencia) representados aquí por puntos de mayor tamaño.

Los extremos de cada eco, y también las líneas periféricas, tienen un desfase mayor y por lo tanto una señal menor.

Puntos del espacio K

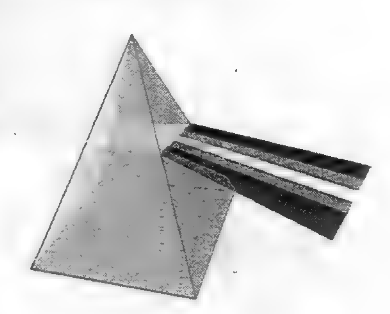


Si extraemos un punto del espacio K (A), veremos que es un número complejo: un número compuesto por dos cifras. Una es la parte real (que representa frecuencias horizontales) y la otra la parte imaginaria (que representa frecuencias verticales) y que lleva colgada una i. Esto mismo se puede representar según los tres cuadrados, cuyas bandas representan ciertas frecuencias espaciales horizontales y verticales de TODO el corte en un determinado instante, según las codificaciones de fase y de frecuencia que se estaban aplicando en ese momento.El espacio K tiene una propiedad que será aprovechada para distintas modalidades de reconstrucción, con el fin de acelerar la adquisición: LA SIMETRIA. El conjugado de un número complejo (Ej.: 3+8i) es otro número complejo con el mismo componente real, pero con un componente imaginario de signo contrario (3-8i). Por lo tanto el espacio K tiene una simetría conjugada, o tambien denominada simetria Hermítica; es simétrico en sentido vertical y horizontal respecto al punto central (B y C).

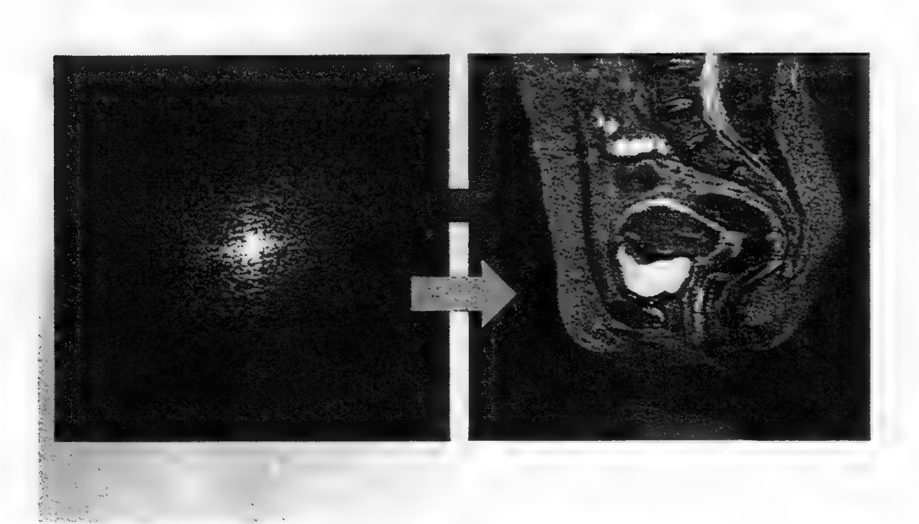




Jean-Baptiste-Joseph Fourier
(1768 - 1830)



El señor Fourier inventó un método matemático que permite descomponer una señal complicada en los diferentes componentes sencillos que la forman. Un prisma actuaría como un "transformador de Fourier" que es capaz de descomponer la luz blanca en los diferentes colores individuales que la forman. La labor de la transformada de Fourier, en RM, es convertir la información del espacio K (expresada en coordenadas de frecuencia) a información de la imagen (expresada en coordenadas espaciales); de una manera muy simple, pasa de Hertzios a centímetros y viceversa. Tanto la imagen como el espacio K tienen la misma información, aunque expresada de forma diferente. Creemos que no es necesario profundizar más en este proceso, simplemente créaselo.



Cada imagen tiene su espacio K, y cada espacio K corresponde a su imagen. La transformada inversa de Fourier pasa del espacio K a la imagen (flecha verde), y la transformada directa pasa de la imagen al espacio K (flecha roja).

Es muy importante remarcar que TODO el espacio K se transforma en TODA la imagen, es una transformación total, no punto a punto. Posteriormente se verá que esta propiedad es de vital importancia, pues suprimir líneas del espacio K no implica suprimirlas de la imagen; lo que se sacrifica al quitar líneas del espacio K es calidad de imagen.

En este ejemplo se muestra el espacio K de esta imagen sagital del abdomen inferior.

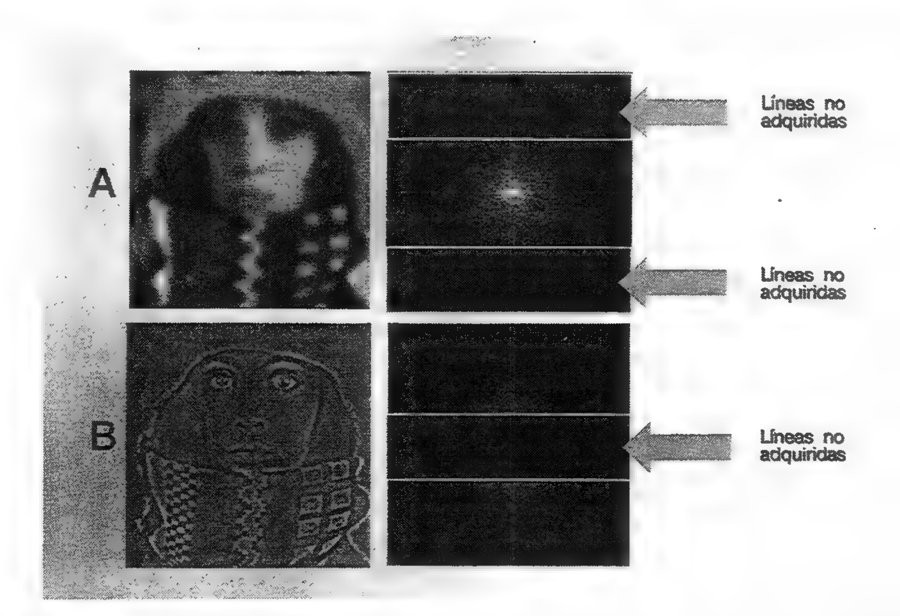
¡No es el mismo punto!



Esta es una imagen utilizada clásicamente en los libros de tratamiento de imagen (por cierto, está bella dama se llama Trui).

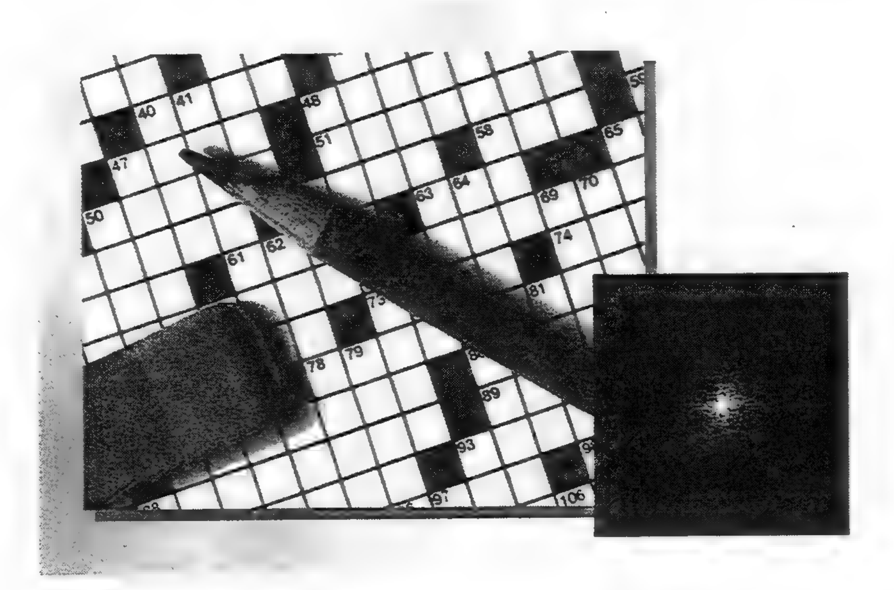
A la derecha está su espacio K completo.

Es muy importante remarcar que un punto de la imagen no se corresponde con un punto del espacio K (cuadraditos verdes o píxeles). Cada punto del espacio K contiene información de TODA la imagen, concretamente de sus frecuencias espaciales horizontales y verticales.



En este ejemplo podemos observar un hecho muy demostrativo: A) Cuando se suprimen las líneas periféricas del espacio K la imagen pierde detalle, pero no pierde contraste. B) Si se suprimen las líneas centrales se pierde el contraste pero se mantiene el detalle. Obsérvese cómo suprimiendo las líneas centrales, que tienen mayor señal que las extremas, la imagen, además de contraste, pierde señal y la relación señal-ruido (S/R) es peor.

El primer supuesto, la no adquisición de líneas periféricas, será utilizado casi sistemáticamente en la adquisición de imágenes en RM con el fin de acortar el tiempo de adquisición. El centro del espacio K es **INTOCABLE** (contiene toda la información del contraste de la imagen).



Vamos a entrar con detalle en el manejo del espacio K. El objetivo principal es el acortamiento del tiempo de exploración, manteniendo el contraste y un detalle y resolución suficientes.

En ocasiones, un determinado relleno del espacio K también afecta a algunos artefactos, como los producidos por el movimiento, o el artefacto de emborronamiento.

Manejo del ESPACIO K

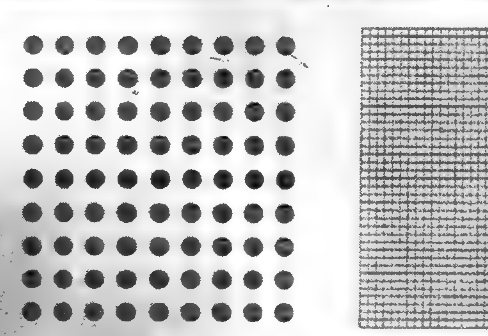
- Lectura o barrido completo
- Adquisición reducida
  - Pixel rectangular
  - Relleno por ceros
- Campo de medición (FOV) rectangular
- *Halfscan*
- *Keyhole*
- Eco parcial
- Lectura espiral
- SENSE

El espacio K puede rellenarse de varias maneras aprovechando alguna de las características que hemos visto anteriormente, como son la intensidad de los ecos según su localización en el centro o en los extremos, la simetría de las codificaciones de fase con distinto signo, o la simetría del eco en su parte inicial y final.

Las distintas modalidades de relleno están casi siempre encaminadas a reducir el tiempo de adquisición.

Parte VI
FORMACIÓN

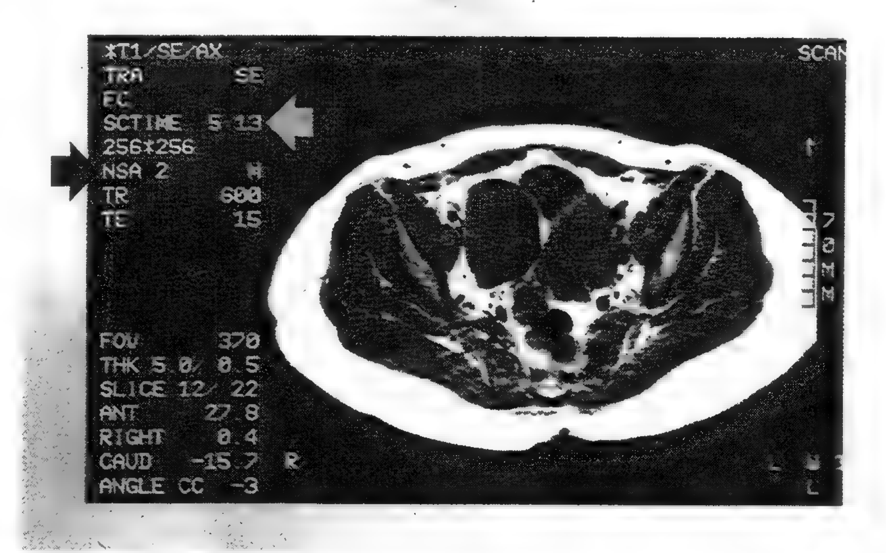
Matriz Cuadrada



Lectura o barrido completo

El espacio K puede rellenarse completamente, de manera que se adquieren tantos ecos como líneas tiene la matriz. Por ejemplo, para obtener una imagen con una matriz de 256x256, hay que obtener 256 ecos, cada uno con su codificación de fase.

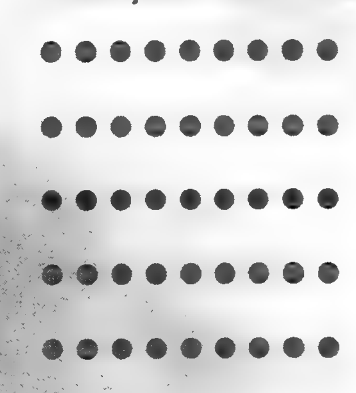
Una secuencia SE potenciada en T2 y con una repetición (1 NEX), utilizando un TR de 2000 ms, supone un tiempo de adquisición de 8:30 min. Esto parece un tiempo muy largo. Todo lo que veremos a continuación está encaminado a acelerar el proceso de adquisición.

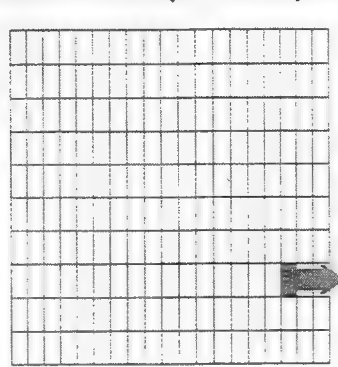


Ejemplo de adquisición o relleno total del espacio K. Esta imagen axial de la pelvis, se ha obtenido con una secuencia SE potenciada en T1 (TR 600, TE 15) y una matriz de 256x256, adquiriendo todos ecos, y rellenando todas las líneas del espacio K. El número de repeticiones es 2 (flecha roja) y el tiempo de adquisición de 5:13 min (flecha verde).

Adquisición Reducida I

Porcentaje de escán: Reducción del tiempo de adquisición

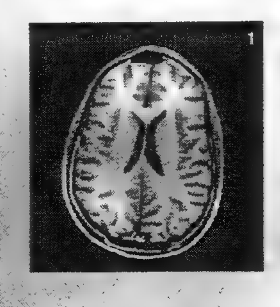


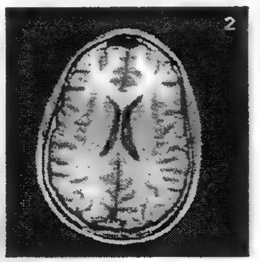


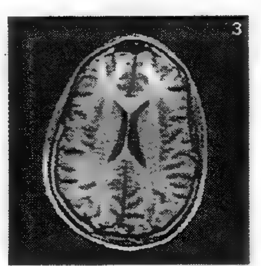
Es posible rellenar menos líneas del espacio K, con lo que el tiempo de adquisición se reducirá proporcionalmente. Rellenando un 80% de las líneas, se ahorra un 20% de tiempo. Si el FOV se mantiene cuadrado, el píxel aumenta de tamaño en la dirección de la codificación de fase (de píxel cuadrado pasa a píxel rectangular), perdiendo algo de resolución espacial en esta dirección.

Por ejemplo, si con una matriz de 256x256 con un determinado FOV el tamaño del píxel es de 1x1 mm, con una adquisición reducida del 75% (192x256), el tamaño del píxel pasa a ser de 1,34x1 mm. Al ser el vóxel de mayor tamaño, la relación señal/ruido (S/R) pasa de 1 a 1,15.

Matriz %	Matriz	Tamaño de píxel	Tiempo	S/R
100%	256x256	1 mm x 1 mm	100%	1,00
75%	192x256	1,34 mm x 1 mm	75%	1,15
50%	128x256	2 mm x 1 mm	50%	1,41







Las figuras muestran un escán al 100% (1), un escán parcial al 75% (2), y al 50% (3).

En el texto queda reflejada la reducción en el tiempo de adquisición, el aumento del tamaño del píxel, y aumento de la S/R. La pérdida de detalle hasta reducciones del 75% es casi imperceptible

(Siemens, Manual de Aplicaciones).

Adquisición Reducida II

Porcentaje de escán: Reducción del tiempo de adquisición

Líneas extremas del espacio K, sustituidas por valores 0

Escasa contribución a la imagen

Altas frecuencias - baja intensidad

Escasa contribución al contraste

Parte VI FORMACIÓN

Existe otro método en el que igualmente se adquieren menos líneas del espacio K. Sin embargo, las líneas no adquiridas se sustituyen por ceros (*zero filling*). Es como si se engañara al ordenador; en realidad para él las líneas existen, aunque no se hayan adquirido.

De nuevo recordemos que los ecos extremos son muy débiles y, aunque son los que aportan el detalle, su contribución a la imagen final es escasa. El contraste no se ve afectado, pues son las líneas centrales las que lo determinan.

Reducción de adquisición del 20-30%

Se reduce proporcionalmente el tiempo

Escasa pérdida de resolución espacial

Sin pérdida de S/R

Artefactos: *"ringing"* con porcentajes < 80%

La redución, en general, no suele ser mayor del 20-30% (se adquieren un 70-80% de las líneas). Naturalmente, el tiempo de adquisición se reduce de manera proporcional.

Existe una pérdida, generalmente inapreciable, de resolución espacial.

Cuando se suprimen demasiadas líneas, puede aparecer el artefacto *ringing*, del que hablaremos posteriormente.

+128

+ 90

0

- 89

- 127

En este esquema se muestra de manera gráfica el porcentaje de escán con un relleno por ceros de líneas periféricas del espacio K. En esta matriz de 256x256 se han adquirido 180 ecos (se han rellenado 180 líneas), lo que supone un escán parcial del 70% (180 de 256). Cada usuario debe conocer la terminología de su equipo: en algunos equipos el porcentaje seleccionado se refiere a las líneas adquiridas (como en ejemplo aquí mostrado), mientras que en otros se refiere a las líneas no adquiridas (un porcentaje del 30% supondría no adquirir un 30% de las líneas).

Adquisición reducida o porcentaje de ESCÁN

- Suprimiendo líneas extremas del espacio K

  Píxel rectangular

- Sustituyendo las líneas no adquiridas por ceros (*Zero filling*)

  Píxel cuadrado

Por lo tanto existen dos métodos de porcentaje de escán:

a) Suprimiendo líneas extremas del espacio K; el píxel es rectangular.

b) Sustituyendo las líneas no adquiridas por ceros; el píxel permanece cuadrado.

En el primer caso se gana algo de S/R, y en el segundo, algo de detalle.

Actualmente, en algunos equipos es posible seleccionar ambas posibilidades al realizar una exploración.

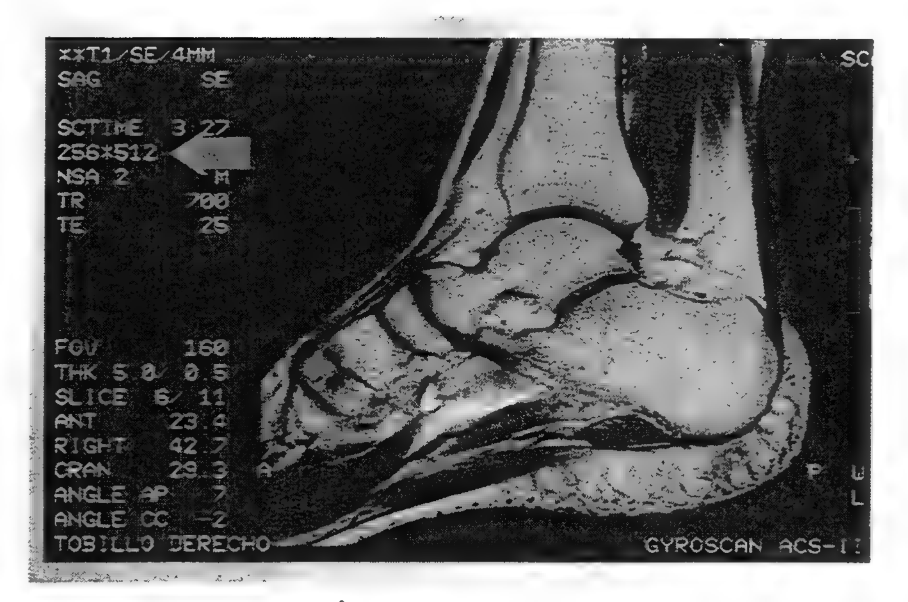


256 x 256



64 x 256

En este ejemplo de un corte coronal del tobillo con una secuencia SE potenciada en T1, podemos ver a la izquierda una adquisición total (porcentaje de escán al 100%). A la derecha se efectúa un escán parcial al 25% (sólo se han adquirido el 25% de las líneas). Prácticamente sólo se ha adquirido el centro del espacio K, perdiéndose mucho detalle pero manteniéndose el contraste. En la práctica, la adquisición raramente se reduce en un porcentaje tan alto, y este caso únicamente se muestra como ejemplo.



En este ejemplo se muestra una imagen de alta resolución (matriz de 512x512) adqurida con una secuencia SE potenciada en T1. Se ha realizado un escán parcial y un relleno por ceros. Puede llamar la atención el porcentaje de escán tan elevado (¡50%!) sin que exista merma aparente del detalle y la resolución. Cuando se utilizan matrices de alta resolución, las líneas extremas son **"muy extremas"** (codificación de fase muy alta), los ecos muy débiles y, aunque aportan detalle de la imagen, apenas tienen señal.

En estos casos es posible **dejar de** adquirir un mayor número de líneas; el porcentaje de escán puede alcanzar el 50%. El tiempo de exploración, con respecto a una adquisición total, es la mitad.

Campo de Medición (FOV) rectangular

FOV = *"Field of View"*

- Reducción del tiempo de adquisición.
- Se adquieren líneas alternas del espacio K.
- El espaciado entre líneas es doble si la reducción es del 50% (100 - <50%).
- Las dimensiones de la imagen son las mismas que las del espacio K (espacio K de 160x256 = imagen de 160x256).

Otro método para reducir el tiempo de adquisición es utilizar FOV rectangular. Con éste se reduce el tiempo de exploración, a base de reducir el FOV en la dirección de la codificación de fase, adaptándolo a la región anatómica. La transformada de Fourier conserva dimensiones, es decir, la imagen siempre tendrá el mismo tamaño que su espacio K asociado. Si sólo se adquiere un 50% de líneas del espacio K (128x256) el tamaño de la imagen también será de 128x256. A diferencia del escán parcial, donde se dejaban de adquirir las líneas extremas, en el caso del FOV rectangular se adquieren líneas desde la codificación más extrema (-128) pero se dejan de adquirir líneas intermedias. La reducción puede oscilar entre el 99% y menos del 50%. En el caso de un 50% se rellenan líneas alternas de todo el espacio K.

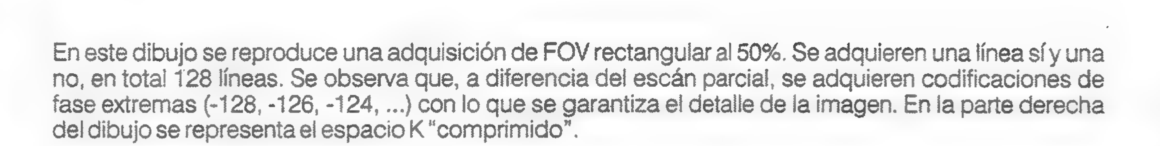
Diferencia entre FOV rectangular y escán parcial de pixel rectangular

- El tamaño del FOV en la dirección de la codificación de fase es directamente proporcional a la reducción de líneas del espacio K.
- El píxel permanece siempre cuadrado.
- Se mantiene la resolución: se mantienen las codificaciones de fase extremas, que son las que determinan la resolución espacial. Por ej. en una matriz de 256x256 se mantienen las codificaciones de fase: -128 y +128 (en % de escán con pixel rectangular **NO** se adquieren líneas extremas).

Es importante remarcar la diferencia entre FOV rectangular y escán parcial de píxel rectangular. En ambos casos se adquiere un espacio K rectangular, por lo que la imagen asociada tiene que ser rectangular pero si, por razones anatómicas, se necesita una imagen cuadrada, el método de escán parcial con píxel rectangular hace que la imagen sea cuadrada a costa de "estirar" el píxel en la dirección de codificación de fase. Como se ha explicado anteriormente esto supone una pérdida de resolución espacial en la dirección en la que se ha "estirado" el píxel. Con el método del FOV rectangular, el píxel permanece cuadrado y la resolución espacial (tamaño del píxel al fin y al cabo), es la misma que para una imagen de FOV cuadrado.

Adquisición de FOV rectangular al 50%





En este dibujo se reproduce una adquisición de FOV rectangular al 50%. Se adquieren una línea sí y una no, en total 128 líneas. Se observa que, a diferencia del escán parcial, se adquieren codificaciones de fase extremas (-128, -126, -124, ...) con lo que se garantiza el detalle de la imagen. En la parte derecha del dibujo se representa el espacio K "comprimido".

Parte VI
FORMACIÓN

FOV rectangular - Indicaciones

Una dimensión anatómica mucho mayor que otra:

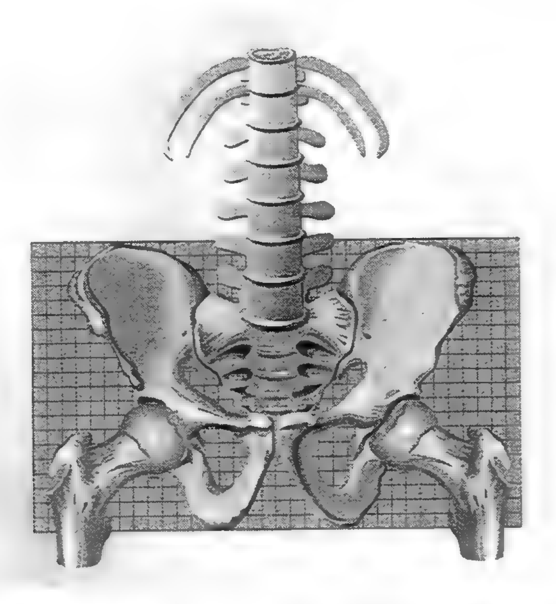
- extremidades
- columna
- angiografía, pediatría, imagen volumétrica

Precauciones:

Como pueden quedar excluidas regiones anatómicas aplicar *fold-over suppression*, bandas de saturación, colocación exacta del paciente.

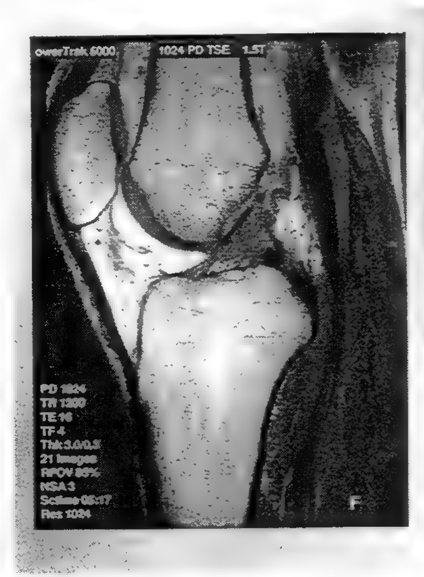
Las indicaciones de uso quedan reflejadas en el cuadro. En resumen, se aplica una reducción de tiempo de adquisición mediante FOV rectangular siempre que la región anatómica sea mayor en una dimensión que en otra. Si se quiere reducir tiempo de adquisición pero la región anatómica es aproximadamente cuadrada hay que recurrir a técnicas de escán parcial, bien de píxel rectangular, bien de píxel cuadrado.

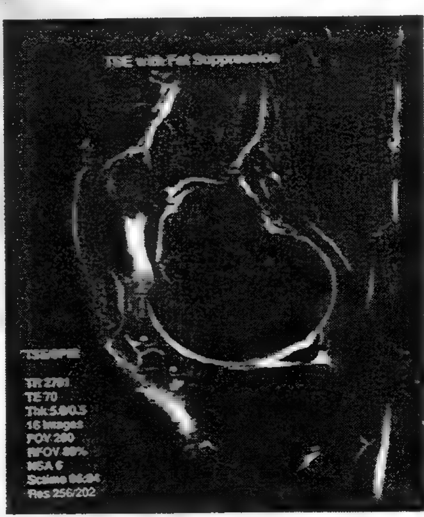
El artefacto de *fold-over* se tratará ampliamente en el capítulo de artefactos.



Un ejemplo de utilización de FOV rectangular es un corte coronal de la pelvis. Normalmente es suficiente con adquirir una imagen en la que la dimensión cráneo-caudal sea un 70% de la dimensión transversal. Utilizando un FOV rectangular al 70% y especificando la **dirección de codificación de fase** como **dirección cráneo-caudal**, se obtiene una imagen de buena calidad clínica con un ahorro de tiempo del 30% respecto a la adquisición al 100%.

IMPORTANTE: En la práctica se suelen combinar las técnicas de porcentaje de escán y FOV rectangular para reducir el tiempo de adquisición aún más.



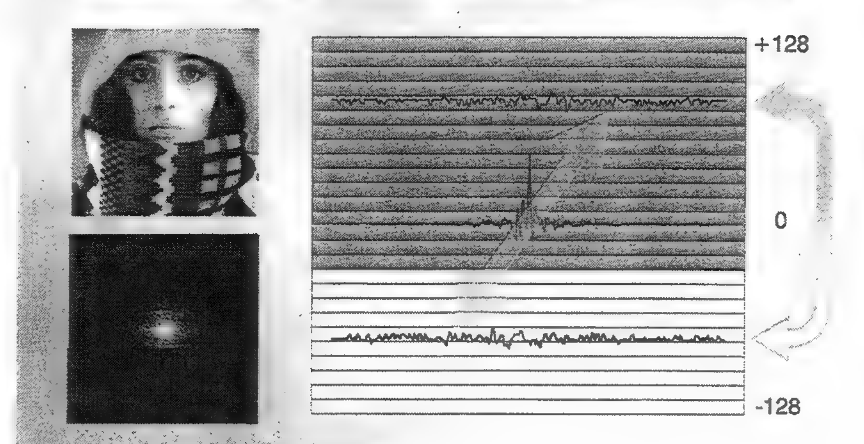


Ejemplos de FOV rectangular. Se trata de secuencias TSE con un porcentaje de FOV del 85% y 80% respectivamente. El FOV rectangular se ha aplicado ya que la estructura a estudiar es rectangular.

En la imagen de la derecha se ha aplicado además una técnica de supresión espectral de la grasa.

¡Deléitese en observar una imagen (izquierda) obtenida con una matriz de 1024x1024, obtenida en 5:17 min!

Simetría del espacio K



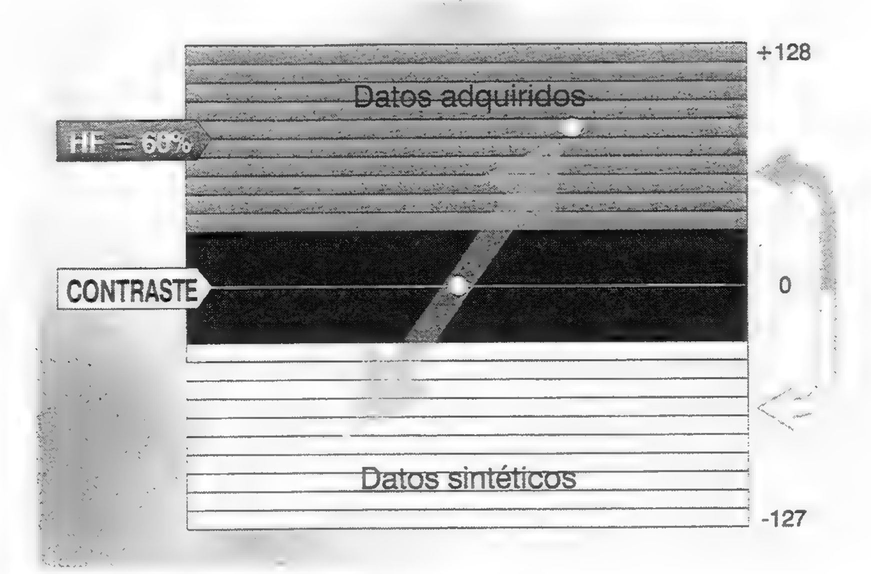
Ya se ha mencionado anteriormente que el espacio K tiene una simetría denominada simetría Hermítica. Esto quiere decir que cada punto de una mitad del espacio K tiene su punto "especular" en la otra mitad. En teoría podría reconstruirse una imagen con la adquisición de tan sólo una mitad del espacio K, puesto que tenemos información suficiente para calcular la otra mitad. Recordar que las codificaciones de fase del mismo orden (+126 y -126, +82 y -82, ...) generan ecos en teoría iguales e invertidos, por eso la mitad superior del espacio K puede obtenerse de la mitad inferior. Por otra parte, los propios ecos son simétricos (ver esquemas del espacio K), con lo que el espacio K también es simétrico de izquierda a derecha.

HALFSCAN

- Método para reducir el tiempo de adquisición.
- Simetría conjugada de fase.
- Se adquiere aproximadamente la mitad del espacio K (codificaciones de fase).
- No afecta a la resolución de la imagen (las codificaciones extremas se adquieren).
- Artefactos por movimiento
    - Compensar con 2 ó más NEX.

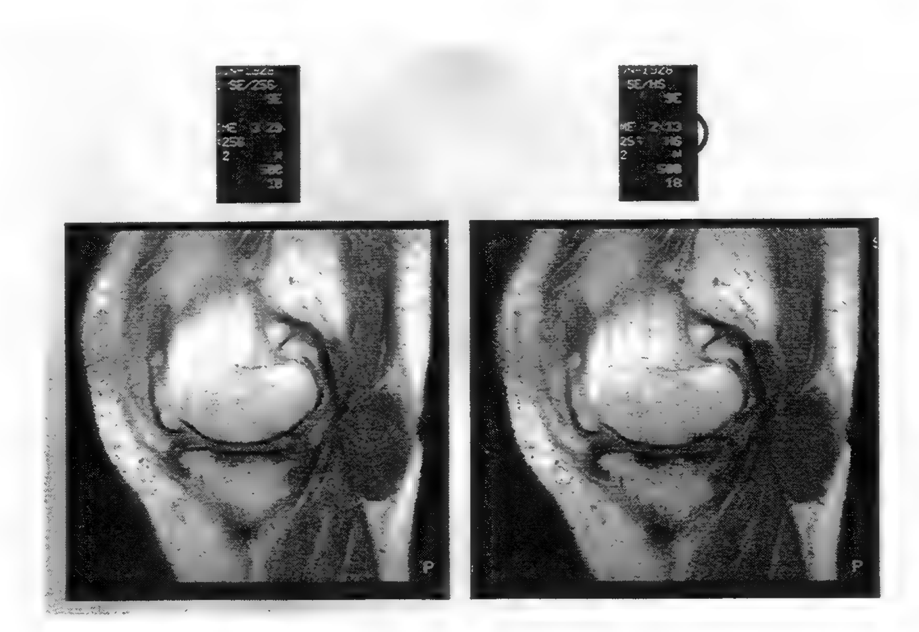
El *half scan* o *half Fourier* (HF) es un método que aprovecha la simetría Hermítica del espacio K para reconstruir una imagen partiendo de una adquisición de, al menos, un 60% del espacio K. Se adquieren algo más de la mitad de las líneas, sin dejar ningún hueco entre ellas (esto sería FOV rectangular) y se calcula la parte no adquirida (en blanco en el esquema anterior) para generar una imagen completa.

Un grave inconveniente es que si existen artefactos en las líneas adquridas, estos se copiarán a las líneas calculadas, duplicando el efecto del artefacto. Esto es especialmente significativo en la imagen cuando se trata de artefactos de movimiento.

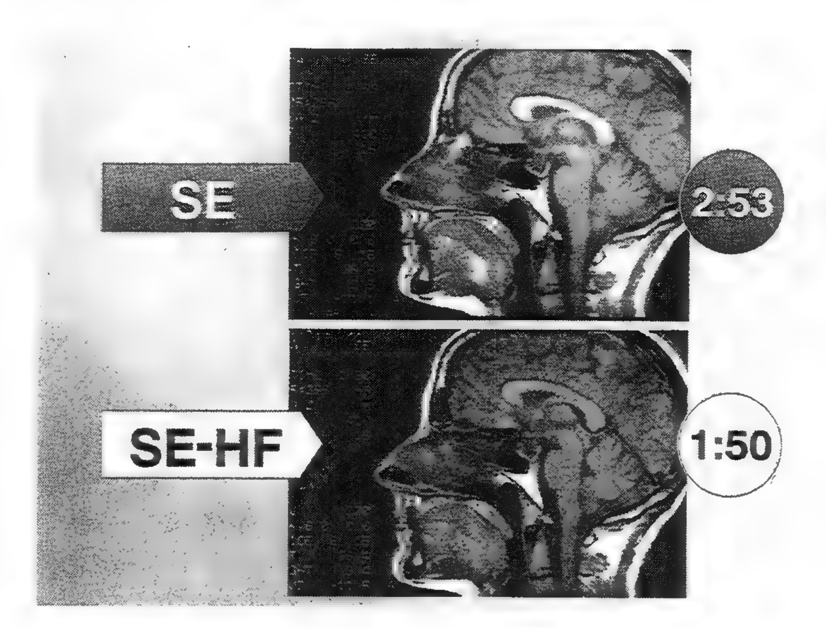


En HF se adquiere al menos un 60% del espacio K para garantizar que las líneas centrales, que dan el contraste a la imagen, estén lo más limpias posible de artefactos. Un punto sintético se calcula como el complejo conjugado del punto adquirido que es simétrico respecto al origen (punto central de la matriz).

Una desventaja es que las imágenes de HF tienen más ruido, porque el que contienen las líneas adquiridas se copia a las líneas calculadas o sintéticas. En una adquisición sin HF el ruido aleatorio que afecta a cada eco es compensado con el ruido de otros ecos, con lo que el ruido total que afecta a toda la imagen no alcanza valores muy altos.



Ejemplo de adquisición normal y HF. El corte sagital de la rodilla a la izquierda se ha efectuado con una adquisición normal, el de la derecha con técnica de HF. El tiempo de adquisición ha pasado de 3:29 a 2:13. No existe pérdida de definición y la disminución de la S/R es inapreciable.

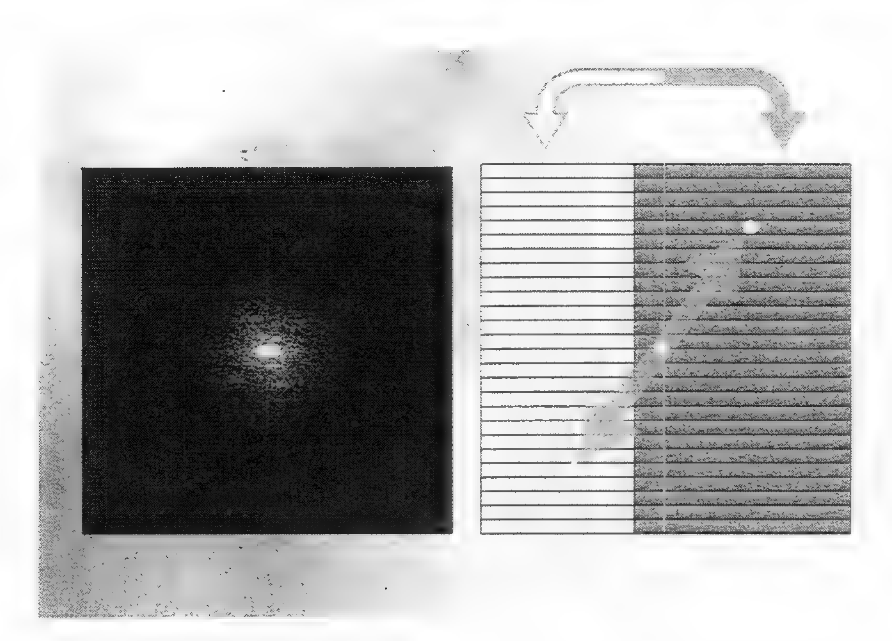


Ejemplo similar al anterior en un corte sagital del cráneo. A la derecha de la imagen pueden observarse los tiempos de adquisición para SE sin y con HF. La imagen HF tiene una S/R discretamente menor.



En esta imagen de alta resolución, ya mostrada para ejemplos anteriores, se combinan un porcentaje de escán, FOV rectangular y HF (señalado con la flecha amarilla). Todo ello permite que el tiempo de exploración sea de 3:27 min.

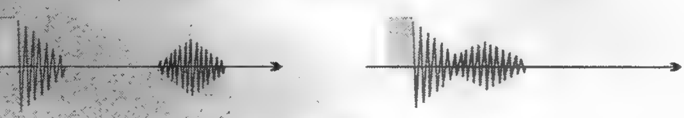
La técnica de HF puede combinarse con otras lecturas parciales del espacio K, y con cualquier tipo de secuencia.



Según se ha comentado anteriormente, el espacio K es simétrico respecto al origen, es decir, se puede calcular la mitad superior teniendo la inferior, pero también la mitad izquierda teniendo la derecha y viceversa. Si lo que se calcula es una mitad lateral, se deja de adquirir una parte de cada eco. Este método se denomina **eco parcial**, y se puede combinar con otras técnicas de reducción de tiempo de adquisición antes mencionadas (porcentaje de escán, FOV rectangular, etc.)

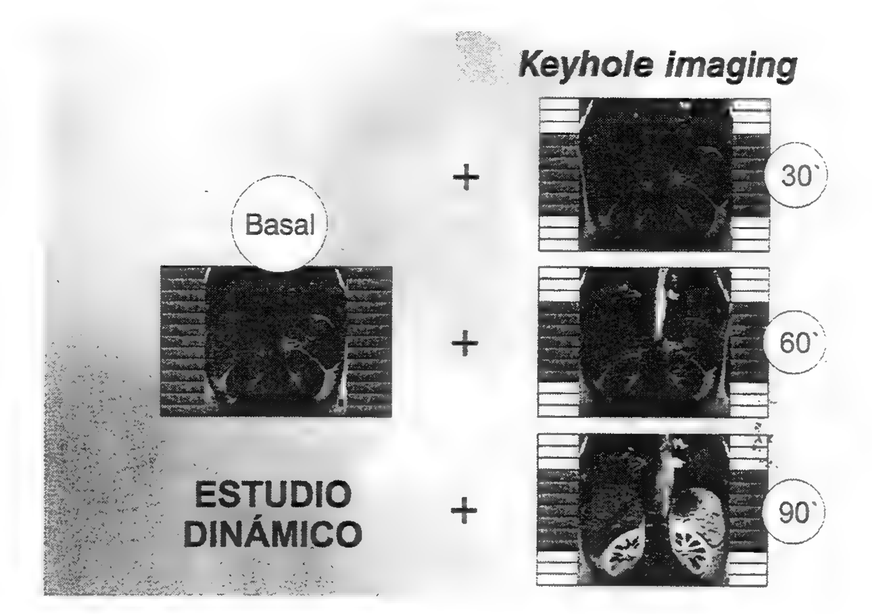
Imagen con eco parcial

- *Fractional echo imaging* o *read simmetry*
- Simetría del espacio K
  - Simetría conjugada de lectura
- Se adquieren todas las codificaciones de fase
- Únicamente se muestrea parte del eco (generalmente la parte distal)
- Acortar el TE (ARM, t1-SE y EG)

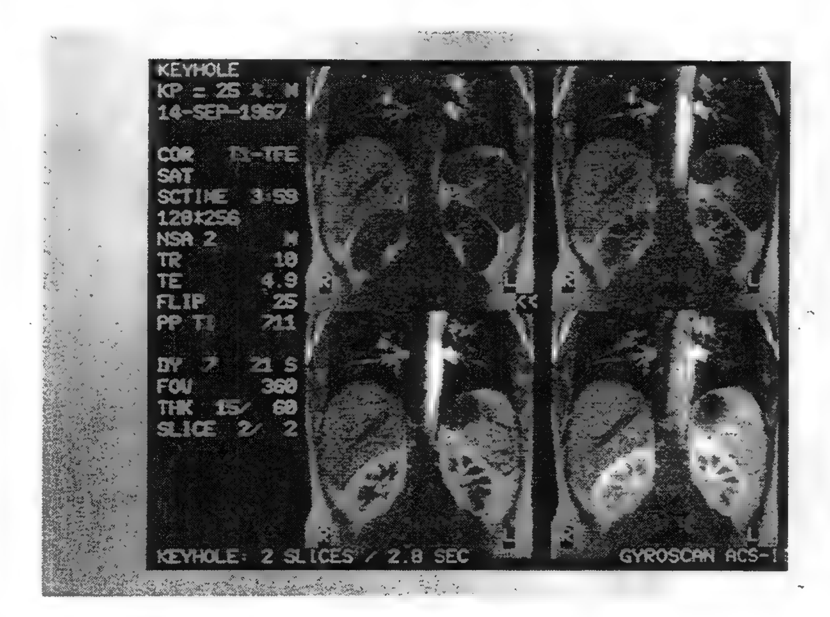


Adqurir y reconstruir imágenes con eco parcial no está diseñado para ahorrar tiempo de exploración. La ventaja de utilizar eco parcial es poder aplicar tiempos de eco muy cortos (TE<1ms). Se adquiere un eco muy cercano al pulso de excitación pero no se lee la parte inicial de este eco, que está superpuesta a la FID. De nuevo se utiliza la propiedad de la simetría Hermítica del espacio K para calcular la primera parte del eco.

Quizás la aplicación más importante del eco parcial actualmente es la adquisición de imágenes 3D en angiografía realzada con gadolinio, en las que se utilizan secuencias con un TR y TE muy cortos.



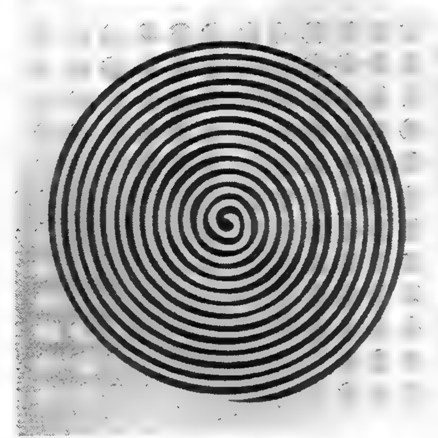
La técnica *"Keyhole"*, desarrollada por Philips para estudios dinámicos con gadolinio, también se basa en el manejo del espacio K. Comienza con la adquisición de varios cortes basales con todas las líneas del espacio K. Posteriormente, tras la administración del contraste IV, se vuelven a adquirir los mismos cortes, pero en esta ocasión sólo se rellenan las líneas centrales del espacio K (entre un 25% -30%). Como los cortes son, en teoría, los mismos en cuanto a geometría, se utilizan las líneas periféricas de las imágenes basales para rellenar las que faltan en las imágenes postgadolinio. La imagen basal aporta el detalle y las imágenes *keyhole* aportan el contraste.

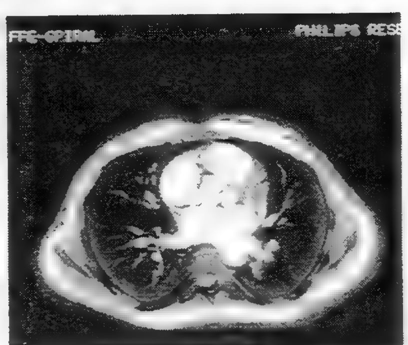


En este ejemplo de *Keyhole*, se han obtenido dos cortes. El factor *keyhole* es del 25% (en la imágenes poscontraste sólo se ha adqurido el 25% de las líneas del espacio K). Por lo tanto el tiempo de adquisición de éstas es de 1/4 de la basal.

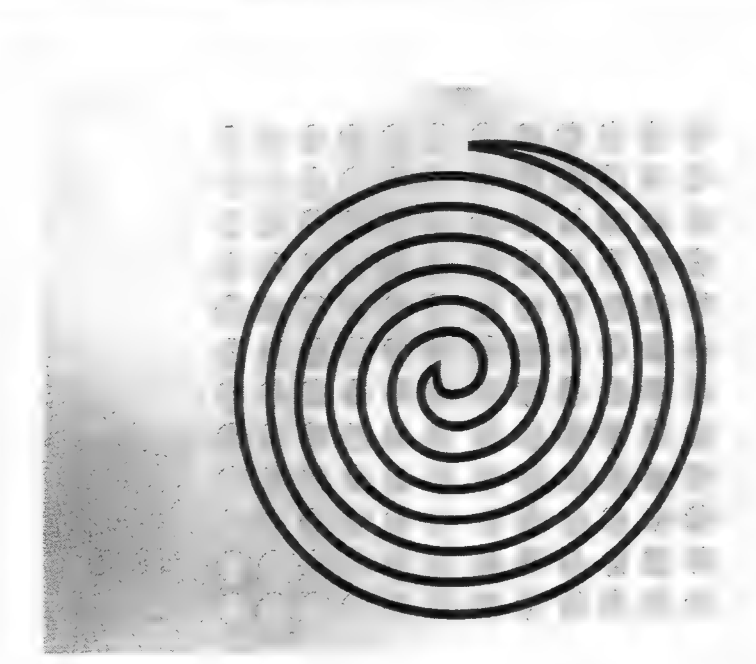
El inconveniente de esta técnica es que se puede aplicar únicamente en regiones o estructuras sin movimiento, ya que la imagen basal y las obtenidas con matríz reducida tienen que coincidir exactamente. En este ejemplo, la secuencia utilizada ha sido TFE, pero la técnica puede efectuarse con cualquier secuencia, basada en SE o en EG.

Barrido Espiral del espacio K





Existe una forma de relleno especial del espacio K consistente en una lectura espiral. Este tipo de relleno se utiliza fundamentalmente en la secuencia EPI. Se adquieren inicialmente los puntos centrales del espacio K, y progresivamente, siguiendo una espiral, los más alejados del centro. Para esto es necesaria la aplicación de gradientes oscilantes rápidos y sobre todo flexibles, en los dos ejes x e y, desfasados 90º entre sí. Este tipo de lectura es menos sensible al decaimiento T2* y, en general a los artefactos, como por ejemplo los de movimiento. En su modalidad *single-shot*, hasta hace poco se utilizaba con matrices de 64x64, obteniéndose imágenes de baja resolución



La forma de adquisición espiral segmentada se utiliza para reducir los artefactos por susceptibilidad magnética y obtener imágenes con mayor resolución. En esta modalidad, cada espiral se rota 90º con respecto a la anterior. En cualquiera de sus modalidades, puede considerarse que el relleno espiral es la forma más eficiente de barrido del espacio K, debido a que es la forma más rápida de cubrir la zona central del espacio K. Las imágenes obtenidas son muy poco sensibles a los fenómenos de turbulencia por el flujo, por lo que actualmente se utilizan para estudios vasculares y cardiacos. El inconveniente principal del relleno espiral es la complejidad de la reconstrucción de la imagen a partir de los datos obtenidos de este modo, por lo que en la práctica clínica no ha sustituido al FOV rectangular o al barrido parcial.

SENSE - *SENSitivity Encoding*

Técnica para reducir el tiempo de exploración que combina

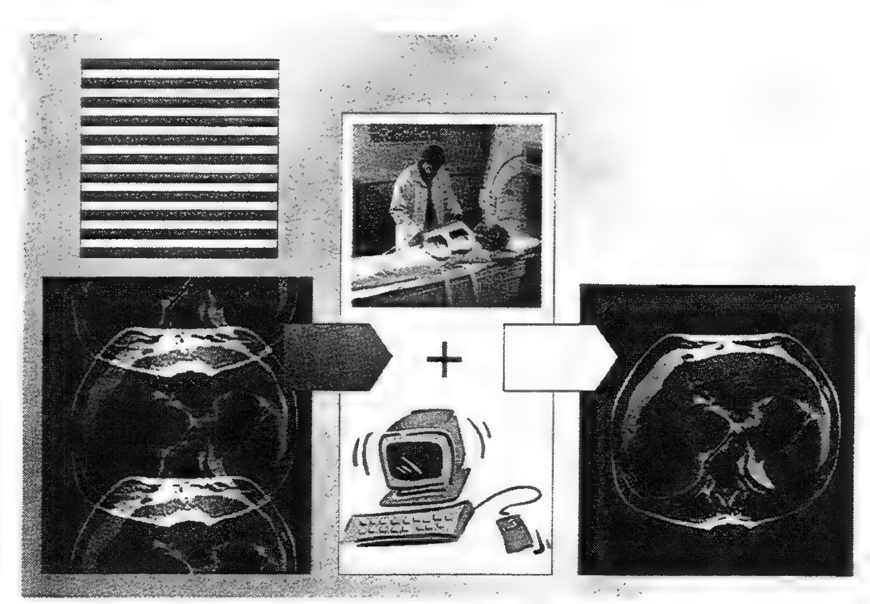
FOV rectangular

+

Bobinas *phased array*

La técnica SENSE, desarrollada por Philips para disminuir el tiempo de adquisición, se basa en la adquisición con un FOV rectangular, que puede ser del 50% o incluso mayor. La consecuencia inmediata es la aparición del artefacto *foldover* o *aliasing*.

Para mantener el FOV completo (rellenar la información de las líneas que faltan sin haberse adquirido) utiliza la información a partir de los distintos elementos independientes de las bobinas *phase array*. Para cada elemento de la bobina se reconstruye una imagen con el artefacto. Posteriormente, a partir de esas imágenes, se reconstruye una imagen con el FOV completo.

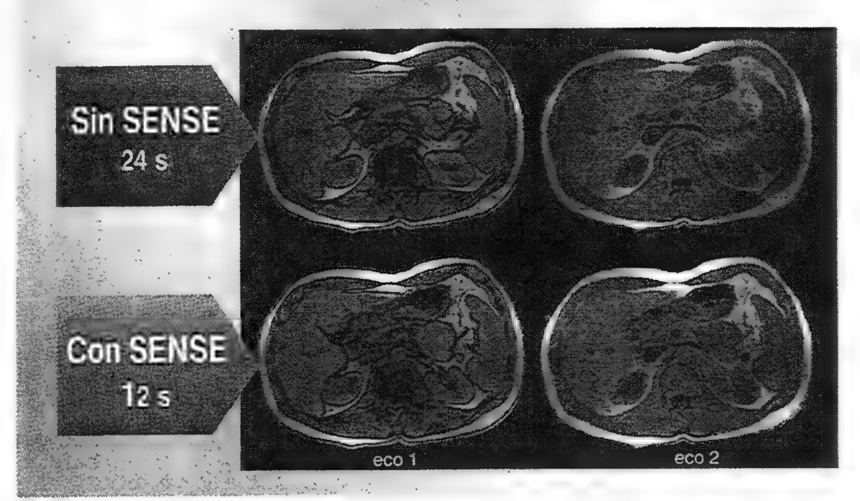


En el esquema se observa a la izquierda una imagen con el artefacto *foldover* causado por un FOV rectangular con un porcentaje muy alto (50%). La información detectada por los múltiples elementos de la bobina *phased array* permiten eliminar el artefacto en la elaboración de la imagen final.

En SENSE existe un factor de aceleración. En los casos mostrados el *SENSE factor* es de dos (mitad del tiempo de exploración).

Con esta técnica, al igual que con el FOV rectangular, se pierde algo de S/R.

Para esta técnica es preciso disponer de muchos muchos elementos en las bobinas, envolviendo la región anatómica. Por ejemplo, una antena de columna (en un solo lado) no sirve para este propósito.



En el ejemplo se puede observar la disminución del tiempo de exploración a la mitad utilizando la técnica SENSE con una secuencia FFE doble eco.

SENSE no interfiere ni modifica los mecanismos de contraste de la imagen, y puede utilizarse con cualquier secuencia o esquema de adquisición.

En teoría, el factor de reducción del tiempo de exploración es proporcional al número de bobinas, sin embargo, en la práctica, y por problemas de la aparición de ruido relacionado con la geometría, el factor de reducción no suele ser mayor de 3-4.

Aplicaciones principales de SENSE

- Estudios dinámicos con respiración mantenida.
- Estudios 3D.
- Angiografía 3D con gadolinio.
- Estudios cardíacos.
  - Imágenes en tiempo real.
- Estudios cerebrales funcionales.
- Espectroscopía.
- Imagen de difusión.

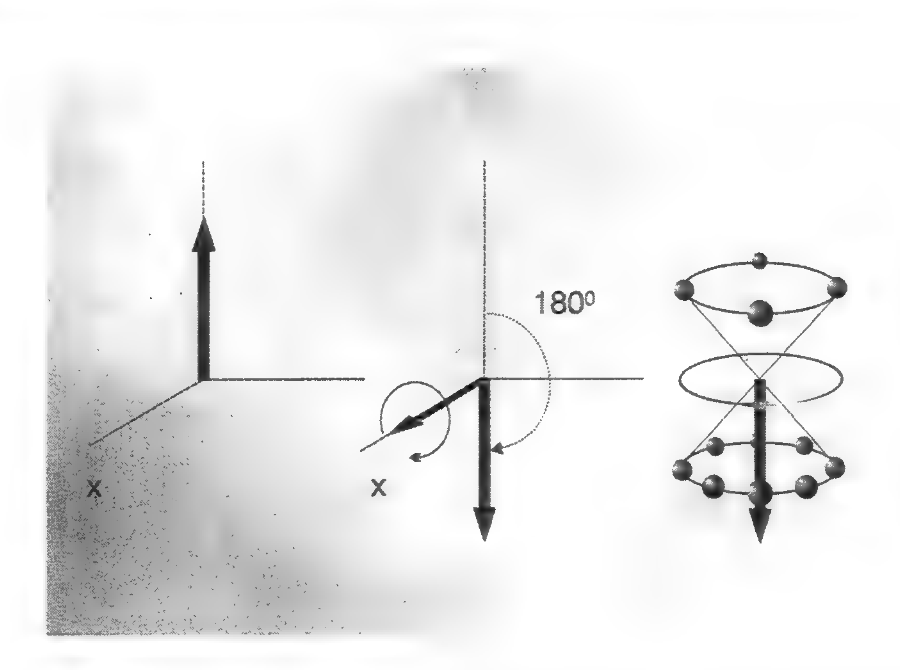
En general SENSE está indicado cuando es necesario disminuir el tiempo de exploración. Adicionalmente, en ocasiones, es posible mejorar la resolución.

La técnica es ideal cuando la velocidad de adquisición está limitada por la capacidad de los gradientes, y cuando una ligera pérdida de S/R no es crítica.

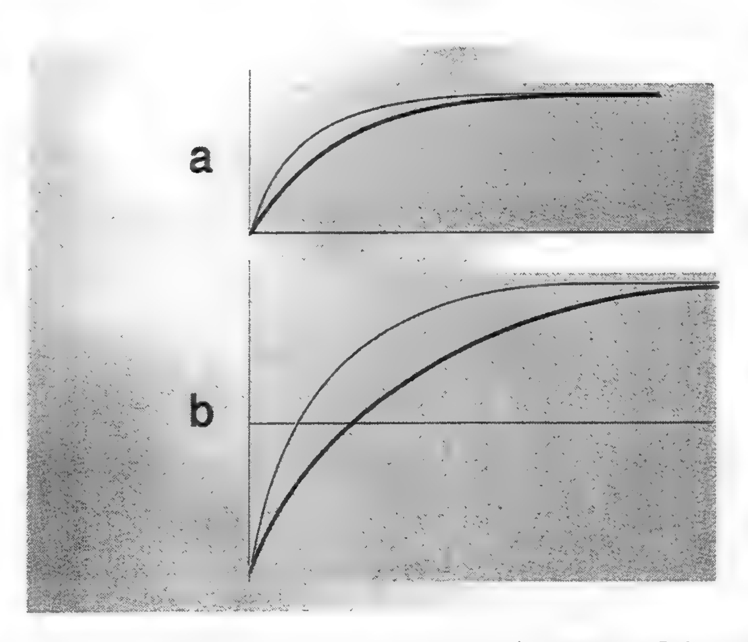
En la tabla se resumen las aplicaciones fundamentales que, como se puede observar, van desde la adquisición de imágenes con respiración mantenida, hasta las más sofisticadas técnicas de estudios cerebrales.

Parte VII - 1

Secuencia Inversión-Recuperación



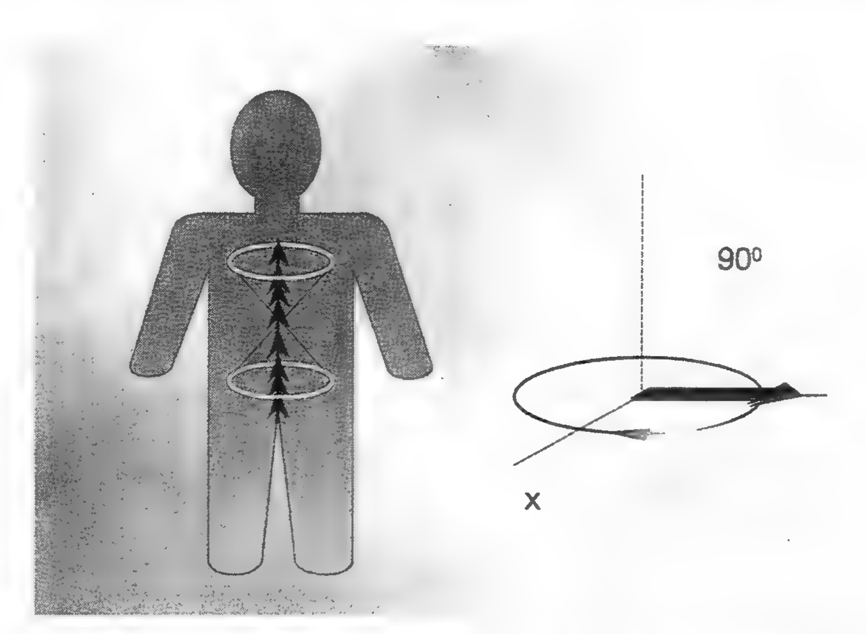
La secuencia inversión-recuperación (IR) es una modificación de la secuencia SE. El ciclo de pulsos comienza con la aplicación de un pulso de RF de 180º que invierte el vector de magnetización en sentido antiparalelo.



La utilidad inicial de esta secuencia, cuando se comenzó a utilizar en IRM a principios de los 80, era la de obtener imágenes fuertemente potenciadas en T1. La magnetización longitudinal se recupera desde un valor doble y, obsérvese cómo, tras el pulso de inversión de 180º (b), las curvas de relajación T1 de los dos tejidos muestran una mayor separación, y por lo tanto un contraste T1 mayor que en una secuencia SE en la que, tras el pulso de 90º, la relajación T1 comienza desde un valor 0 (a).

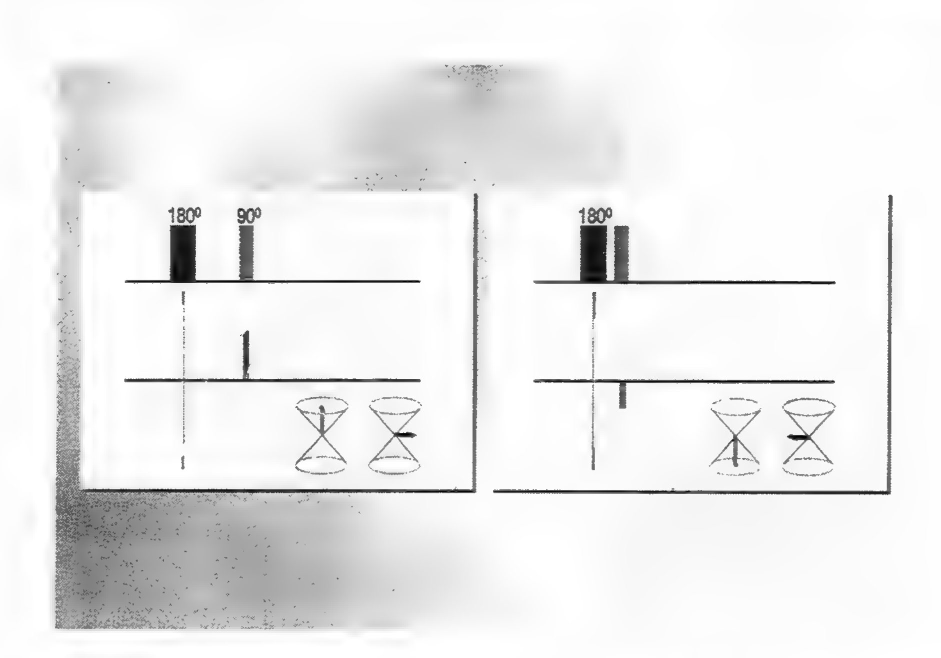
La linea horizontal en (b) representa el instante en el que el valor de los vectores de magnetización durante su recuperación es 0. Esto es debido a que en ese instante el número de paralelos y antiparalelos es igual.





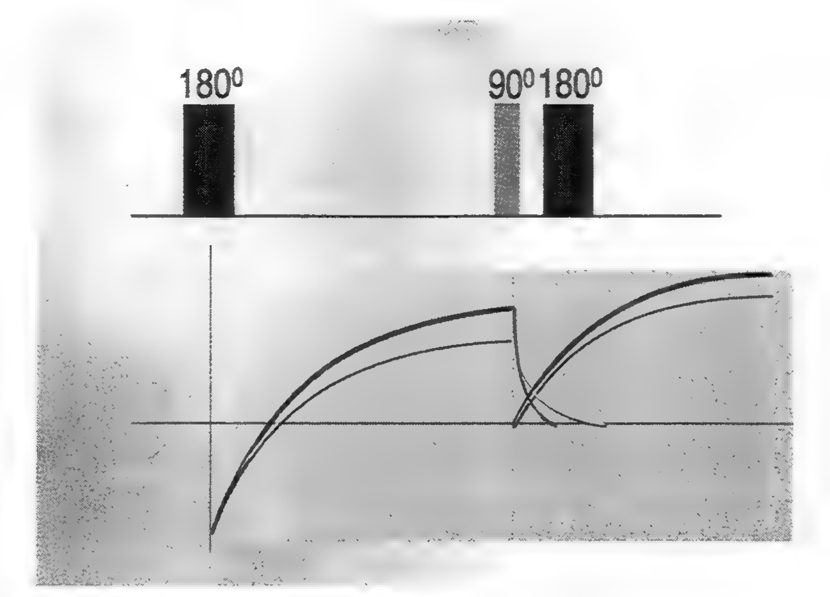
Para iniciar la secuencia de imagen propiamente dicha, durante la recuperación del vector de magnetización longitudinal, que comienza inmediatamente después de finalizar el pulso de 180º, se aplica un pulso de RF de 90º para inclinar el vector al plano transversal. En este momento se inicia una secuencia SE. Cuando se aplica este pulso, el vector puede estar orientado en sentido paralelo o antiparalelo (puede estar orientado hacia arriba o hacia abajo), según el momento.

El tiempo transcurrido entre el pulso de 180º, y el de 90º, se denomina tiempo de inversión o TI (curiosamente aunque se denomine TI, la magnetización no se invierte, unicamente se traslada al plano horizontal; ésta se invierte con el pulso inicial de 180º).



En el esquema de la izquierda, en el momento de aplicar el pulso de 90º, ha transcurrido suficiente tiempo para que el vector de magnetización esté orientado en sentido paralelo (únicamente se representa la curva de relajación T1 de un tejido). En el esquema de la derecha el tiempo transcurrido es menor, y el vector todavía estaba orientado en sentido antiparalelo.

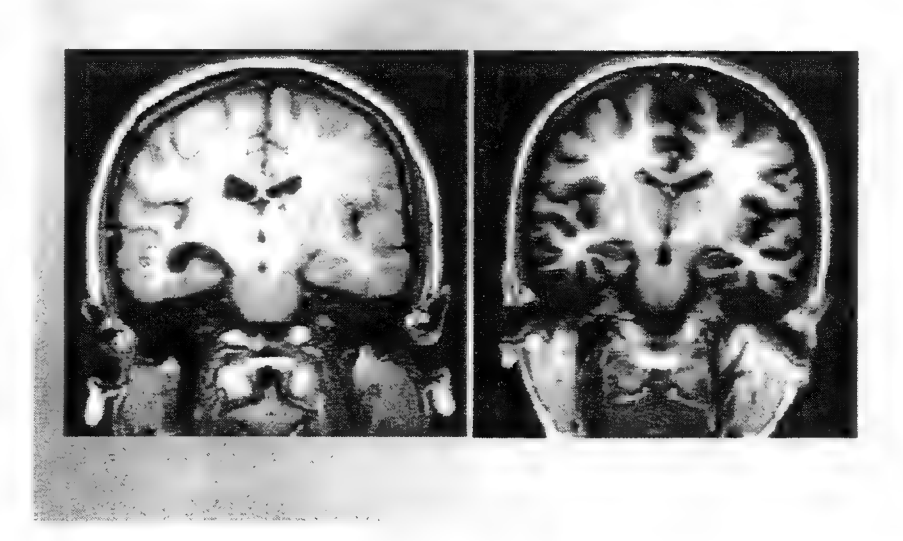
Tras el pulso de 90º la dirección del vector es distinta según su orientación inicial sea en sentido paraleo o antiparalelo; tiene distinta fase.



Después del pulso de 90º se aplica un pulso de180º, al igual que en la secuencia SE, para obtener un eco. En el ejemplo se muestra un esquema del ciclo de pulsos completo, con las curvas de relajación T1 de dos tejidos. Se han obviado los dibujos de la FID y el eco.

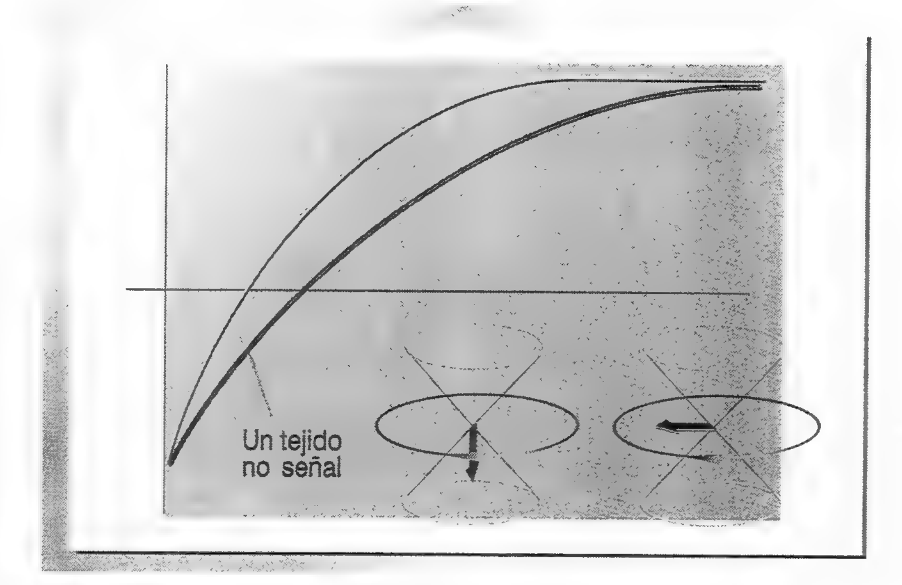
Los vectores de magnetización de los dos tejidos, en este ejemplo, se orientaban en sentido paralelo al aplicar el pulso de 90º.

Como regla general se puede decir que el TR (tiempo entre los pulsos de 180º que invierten la magnetización) debe ser 3-5 veces el T1 del tejido de interés, para garantizar la recuperación de su magnetización longitudinal en el inicio de cada ciclo.

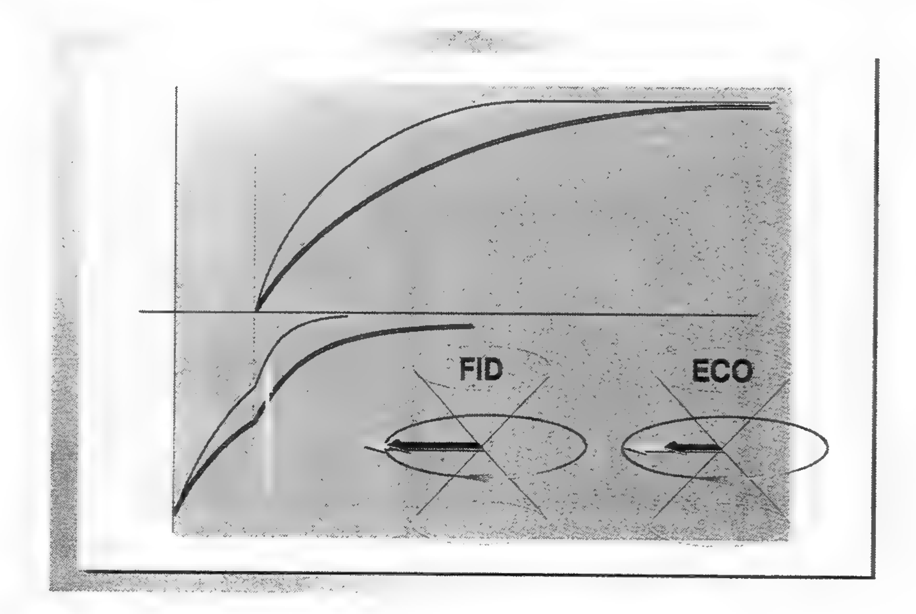


En este ejemplo de cortes coronales de cráneo, se puede observar cómo en la imagen de la izquierda, obtenida con una secuencia SE convencional, el contraste es menor que en la de la derecha, obtenida con una secuencia IR en su forma básica.

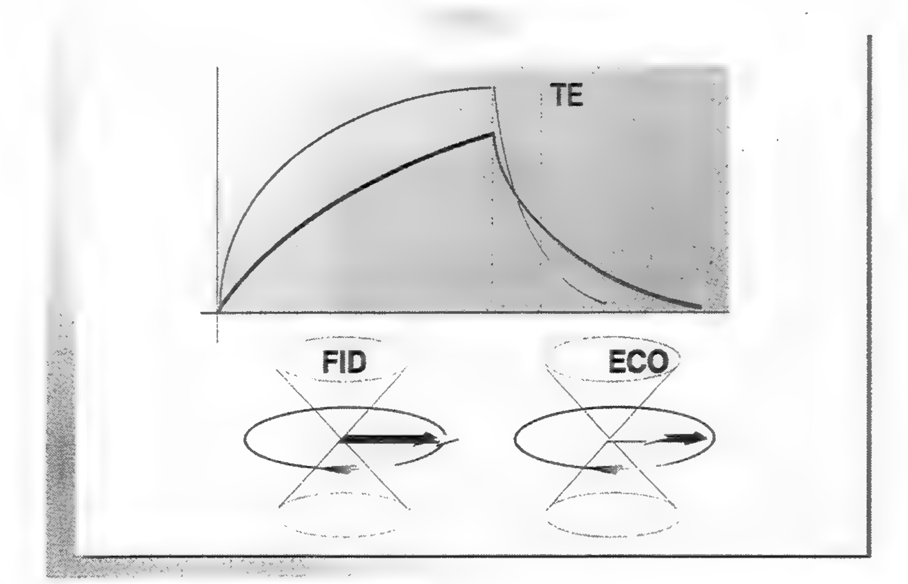
En realidad lo que se hace en la secuencia IR es preparar la magnetización para iniciar posteriormente un ciclo de pulsos SE, como hemos visto hasta ahora. De hecho existe multitud de variantes y secuencias que se inician con un pulso de inversión de la magnetización y se denominan "***secuencias con preparación de la magnetización***".



Si el TI es corto es posible anular la señal de tejidos con un T1 corto, como por ejemplo la grasa (curva amarilla), como muestra la figura (entre 80-180 ms, según la intensidad del campo magnético, ya que debemos recordar que el tiempo de relajación T1 depende de su intensidad, alargándose cuanto más intenso es el campo). En ese preciso instante el vector longitudinal de la grasa tiene un valor 0, puesto que el número de protones paralelos y antiparalelos es igual; por lo tanto no hay vector alguno que inclinar. El resto de los tejidos tienen vectores con valores negativos. En este ejemplo, y para simplificar, únicamente se representa otro tejido, con un T1 más largo (curva roja). La señal del resto de los tejidos dependerá del valor de su vector. Esta secuencia se denomina **STIR**, siglas de ***SHORT TI INVERSION RECOVERY.***

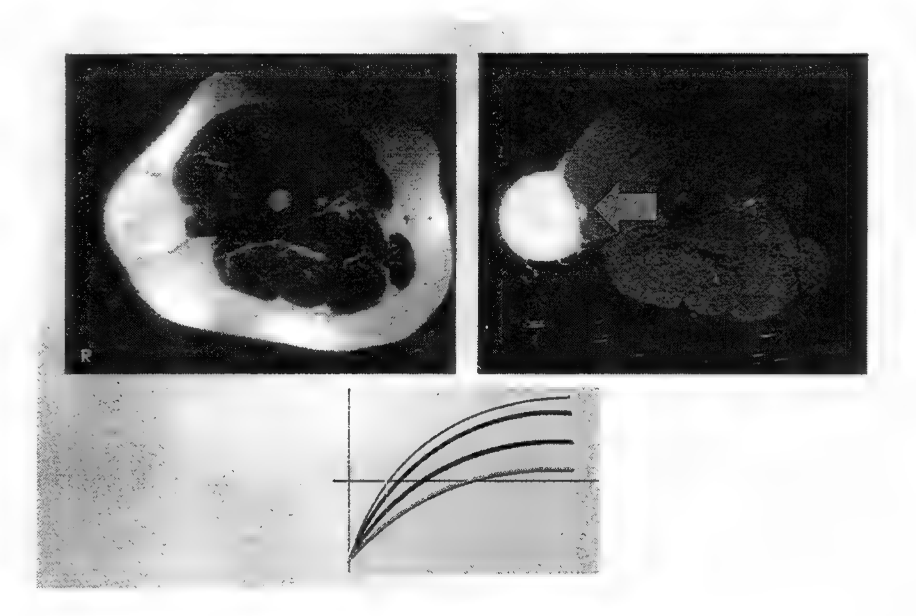


En el esquema se representan las curvas de relajación T1 tras el pulso de 180º. En este caso el pulso de 90º se aplica cuando los dos tejidos no han alcanzado el valor 0. Se quiere remarcar una particularidad de la secuencia IR: cuando el TI es corto (**STIR**), los efectos T1 y T2 son aditivos, al contrario de lo que sucede en una secuencia SE convencional, en la que las curvas de T1 y T2 se cruzan y los efectos T1 y T2 se restan.



Obsérvese como en este esquema de la secuencia SE las curvas de T1 y T2 se cruzan debido a que el tejido que tiene un T1 corto, generalmente también tiene un T2 corto. Por lo tanto los efectos T1 y T2 se restan.

Esta es la razón por la que en SE convencional, la combinación de TR corto y TE largo no es posible porque el contraste resultante sería complejo.



En este ejemplo se muestra la utilidad de la secuencia STIR. En la imagen de la izquierda, obtenida con una secuencia SE potenciada en T2, se observa un tumor en el seno de la grasa subcutánea, que corresponde a un tumor maligno de partes blandas. En la imagen de la derecha, obtenida con una secuencia STIR, se suprime la señal de la grasa. El tumor se visualiza mucho mejor, no sólo por la supresión grasa, sino también por su mayor brillantez (efecto de suma T1 + T2).

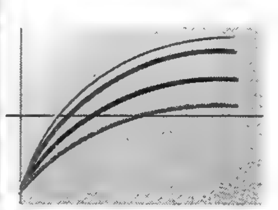
Obsérvese el detalle de la imagen en "botón de camisa" (flecha verde), que representa una pequeña zona de infiltración muscular a través de la fascia muscular.



Corte axial de pelvis con secuencia STIR

STIR

TR: 2000
TE: 120



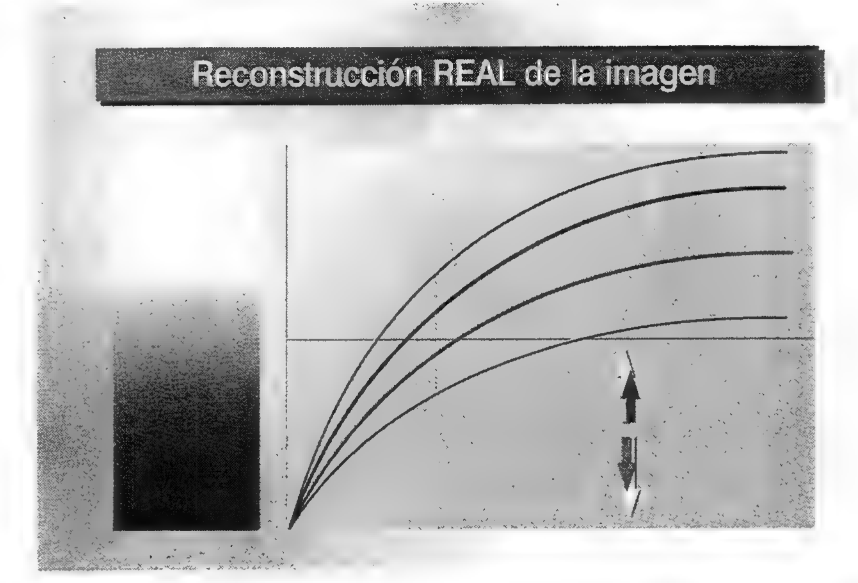
En este ejemplo de un corte axial de la pelvis, obtenido con una secuencia STIR, se observa la supresión de la señal de la grasa. Además se demuestra una lesión en la región glútea derecha que corresponde a una recidiva de un liposarcoma mixoide. La lesión, al igual que en el ejemplo anterior, brilla porque el vector de la lesión es mayor que el de los demás tejidos (tene un T1 más largo), y tras el pulso de 90º el vector en el plano x,y es asimismo mayor. Debido al efecto aditivo de T1 y T2 la lesión muestra una señal mayor que la que mostraría en una secuencia SE potenciada en T2. Este es el motivo por el que la secuencia STIR tiene una gran capacidad para detectar patología.

Principales ventajas de la secuencia *STIR*

1. **Supresión de la señal de la grasa**
   - **Caracterización tisular**
   - **Reducción de artefactos producidos por la grasa**
2. **Efecto aditivo T1 + T2 + DP**
3. **Aumento relativo del contraste**

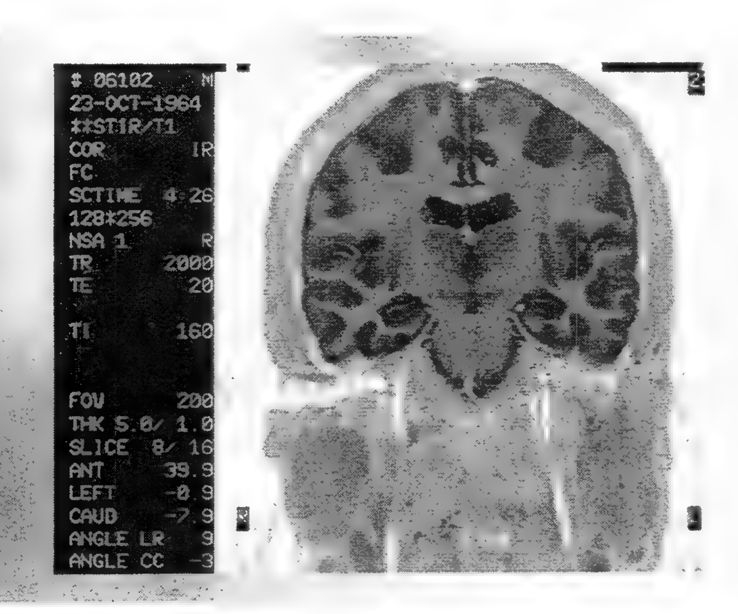
En este esquema se resumen las principales ventajas de la secuencia STIR.La supresión de la señal de la grasa permite caracterizar este tejido. En ocasiones la alta señal del tejido graso es fuente de artefactos, como por ejemplo el movimiento de la pared abdominal anterior que produce artefactos fantasma (que veremos posteriormente en el capítulo de artefactos). La supresión de la señal de la grasa reduce el artefacto.

El efecto aditivo de T1, T2 e incluso de la DP, aumenta la señal de los tejidos patológicos, que tienen un T1 largo.



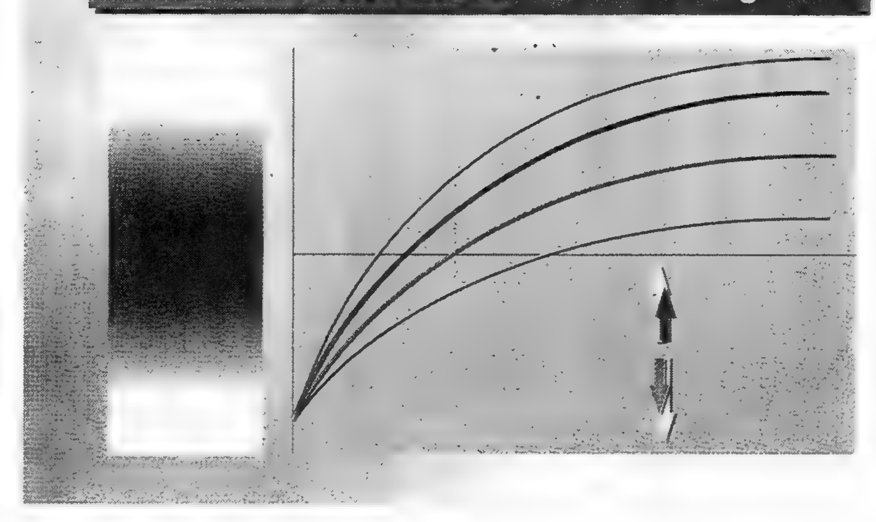
En la secuencia IR existen dos modos de reconstrucción de la imagen: a) la reconstrucción con RECONOCIMIENTO DE FASE o reconstrucción REAL, y b) la reconstrucción en magnitud o MODULAR.

En el esquema se muestra la reconstrucción REAL. En ésta se distinguen los vectores con valor negativo y positivo. Lo más oscuro en la imagen corresponde al tejido con un T1 más largo, y lo más claro a un tejido con el T1 más corto. Los tejidos o estructuras que no dan señal se verán en un tono gris intermedio, que corresponde en la figura al tono de gris correspondiente a la línea horizontal. Este será, además, el tono de gris del fondo (el aire no da señal).



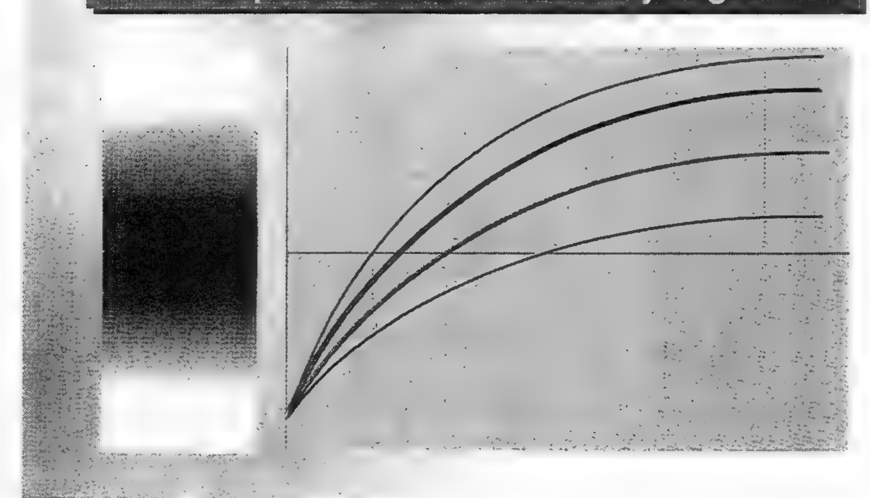
Este corte coronal del cráneo está obtenido con una secuencia IR y un TI de 160 ms, que en un CM de 1,5 T suprime la grasa (secuencia STIR). La reconstrucción es REAL y el fondo es de un gris intermedio. Los tejidos cuyo vector en el momento del TI están por debajo de la línea 0 se ven más oscuros que el fondo. No existe ningún tejido con un vector por encima de esa línea y , por lo tanto, no hay ningún tejido más claro que el fondo.

El tejido con un T1 más largo es el LCR y se ve más oscuro. El siguiente más claro es la sustancia gris, y el más claro de todos es la sustancia blanca.

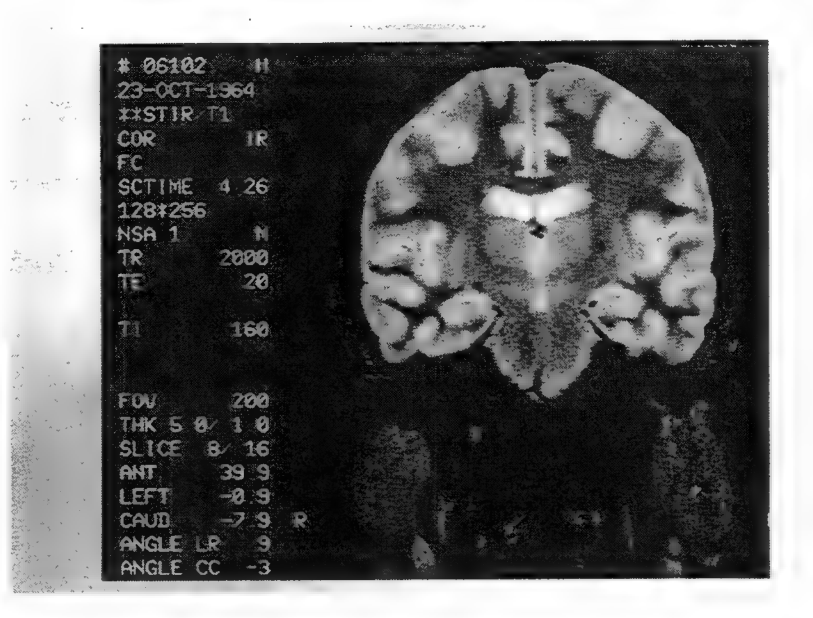


En esta figura se representa la reconstrucción MODULAR. Los vectores se representan únicamente según su módulo o tamaño, independientemente de su orientación (paralela o antiparalela). La escala de grises comienza en la línea basal, pues no puede existir ningún tejido cuyo vector tenga un módulo menor de 0. Por lo tanto lo más oscuro será el tejido que tenga un vector muy pequeño.

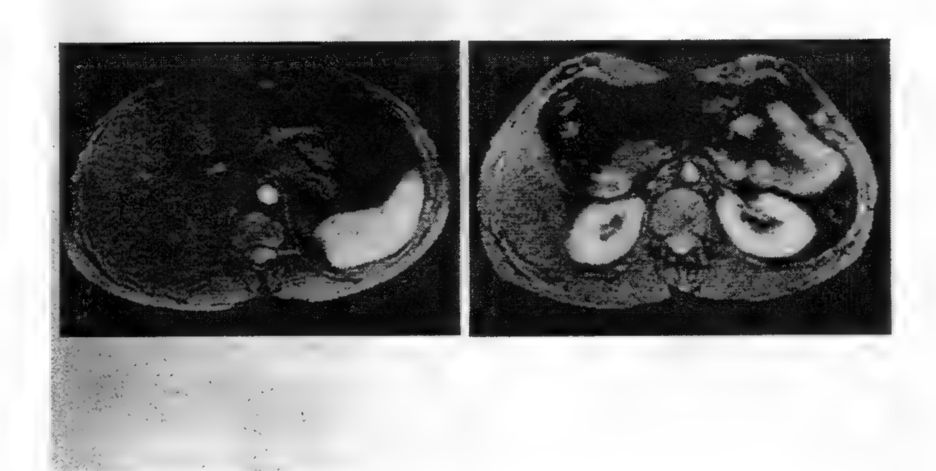
Obsérvese cómo en el ejemplo presentado en el que el TI tiene un valor intermedio, tejidos con un T1 muy diferente pueden dar una señal similar y no contrastar entre sí.



Para evitar este efecto indeseado, este modo de reconstrucción MODULAR se utiliza únicamente con tiempos de inversión cortos (flecha orientada hacia abajo) o largos (flecha orientada hacia arriba), pero no intermedios. En los dos casos, los vectores de todos los tejidos están orientados en una sola dirección.

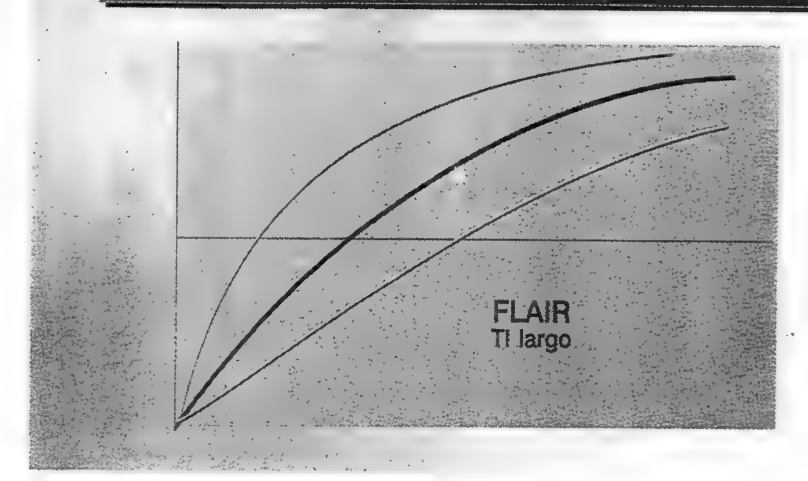


Esta es la misma imagen que en la reconstrucción REAL, pero con reconstrucción MODULAR. El fondo es negro y el tejido con mayor señal es el que tiene el T1 más largo, como el LCR.



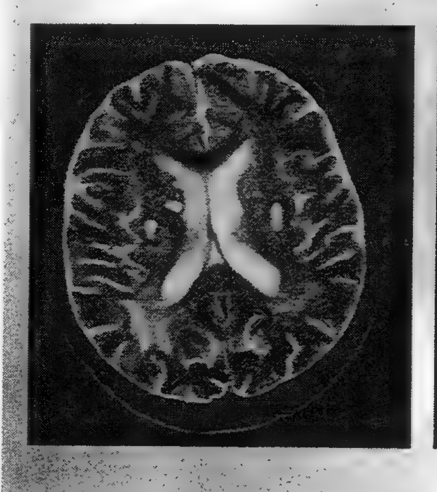
En estos dos cortes del abdomen superior con secuencia STIR y reconstrucción MODULAR se puede observar cómo los tejidos con un T1 largo, como el bazo o los riñones son los que más brillan.

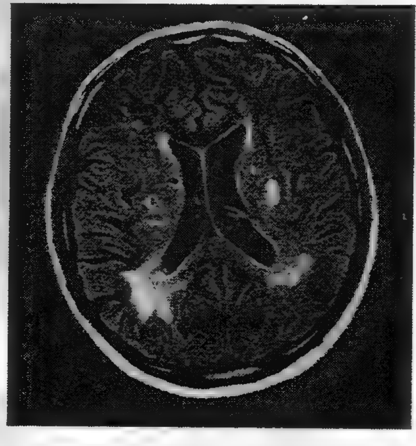
Secuencia FLAIR - *FLUID ATTENUATED IR*



Si se aplica un TI largo es posible anular la señal de tejidos con un T1 largo, como por ejemplo el LCR. El TI suele ser de 1600-2800 ms dependiendo del campo magnético.

Esta secuencia se denomina **FLAIR** que corresponde a las siglas de *FLUID ATTENUATED IR*.



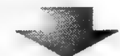


En el ejemplo se muestra un ejemplo de aplicación clínica de la secuencia **FLAIR**. En el corte axial del cráneo SE potenciado en T2 el LCR brilla y la patología periventricular (esclerosis múltiple) contrasta poco. En la imagen de la derecha, **FLAIR**, se anula la señal del LCR y la patología resalta claramente.

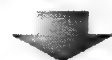
Para destacar los procesos patológicos, en este caso placas de esclerosis, en la secuencia **FLAIR** se utiliza un TE largo, y obtener así una clara potenciación en T2.

Principal inconveniente de la secuencia FLAIR

TR largo



Tiempo de exploración largo



Artefactos por movimientos voluntarios e involuntarios

S/R baja

El principal inconveniente de esta secuencia es el largo tiempo de exploración, principalmente condicionado por el TR largo (recordar que dentro del TR hay que aplicar tres pulsos de RF). Esto favorece la aparición de artefactos por movimientos voluntarios o involuntarios, preferentemente por latidos cardiacos y pulsación vascular.

Para no alargar el tiempo de adquisición, las imágenes se obtienen con una repetición (1 NEX), por lo que la S/R es baja y las imágenes tienen bastante ruido.



Variantes de la secuencia IR

BIR, DIR, DISE, EPI-STAR, EPI-FLAIR, FAIR, Fast DIR, Fast STIR, Fast FLAIR, FIR, FLAIR, FLAIR-FSE, FLAIR-GRASE, FLAT TIRE, HIRE, IR(I)-EPI, IR-FSE, IR-HASTE, IR-PREP, IRSE, LOOK-LOCKER, MDETF, MIR, MPIR, MP-RAGE, MT-Stir, OIL-FLAIR, PARIS, PIETIR, PRESTO, SIR, SOS, STAIR ó STIR-FLAIR, SPIR, STIR, STIR-Flair, T1W IR, T2-FLAIR, TIREX, Turbo FLAIR, Turbo-FLASH, Turbo-STIR, ULSTIR-EPI, UNFAIR

En ocasiones en SE se utilizan parámetros diferentes a los habituales. Por ejemplo, para imágenes localizadoras de baja resolución y rápida adquisición se utilizan TR muy cortos.

También es posible aplicar pulsos de excitación distintos de 90º. En imágenes T1 se pueden utilizar ángulos menores de 90º para aumentar la potenciación en T1, aunque disminuye algo la relación S/R. En imágenes T2 también se puede disminuir el ángulo de excitación para acortar el TR y como consecuencia el tiempo de adquisición sin merma en el contraste.

Complejidad de la secuencia *IR*

- Aplicación de pulsos de presaturación
- Aplicación de pulsos de inversión menores de 180º
- Utilización de MTC
- Utilización de contrastes
  - Gadolinio
  - Otros contrastes

La secuencia IR puede ser compleja. Se pueden aplicar pulsos de presaturación para evitar la señal de la sangre venosa o arterial, o para reducir la señal de tejidos en movimiento que producen artefactos. Para reducir el TI y acortar el tiempo de exploración es posible utilizar ángulos de inversión menores de 180º. La secuencia IR puede utilizarse con medios de contraste, con TI intermedios. Si se utilizan con STIR, al acortarse el T1, se puede producir una pérdida de señal de las lesiones (realce negativo). La secuencia FLAIR se potencia en T2 por lo que la utilización de contraste es innecesaria. La utilización de Mn-DPDP puede ser util para aumentar la detección de lesiones hepáticas. Estas aplicaciones se verán con detalle en el capítulo de medios de contraste.

Parte VIII
Sec. inversión

Aplicación de la secuencia *STIR*





Ejemplo de aplicación de la secuencia STIR. En la imagen de la izquierda, SE T1, se observa un nódulo hepático hiperintenso. A la derecha, la imagen STIR con reconstrucción modular, muestra una supresión de la señal del nódulo. Se trataba de un carcinoma hepatocelular con metamorfosis grasa.

ATENCIÓN: Es importante mencionar que la secuencia STIR suprime tejidos con un T1 corto, y no es selectiva de la grasa. Otros tejidos o lesiones, ocasionalmente, pueden tener un T1 corto, similar al de la grasa, como por ejemplo por su contenido en sustancias paramagnéticas (melanina, hemorragia subaguda, etc.), que acortan el T1.

Para suprimir selectivamente la grasa, veremos posteriormente que existen secuencias específicas.

Parte VII - 2

Secuencias de Eco de Gradiente



31

Reducción del tiempo de adquisición

- Imágenes potenciadas en T2
- Menos artefactos por movimiento
- Estudios dinámicos
- Estudios vasculares (cine)
- Adquisiciones 3D

- **Niños, Pacientes en mal estado, Ansiedad, Claustrofobia**

En las secuencias que hemos visto hasta ahora, SE o IR, el tiempo de adquisición es largo, del orden de minutos. Por ejemplo, una secuencia SE potenciada en T2, o una secuencia IR basada en SE, puede ser de 4 a 10 min.

Una mayor rapidez en la adquisición presenta múltiples ventajas y aumenta las aplicaciones. No sólo reduce el tiempo de adquisición para la obtención de imágenes estándar, sino que permite la realización de estudios especiales que no son posibles con las secuencias SE o IR–SE.

Las exploraciones más rápidas permiten asimismo explorar pacientes que no pueden permanecer largo tiempo en el *gantry*.

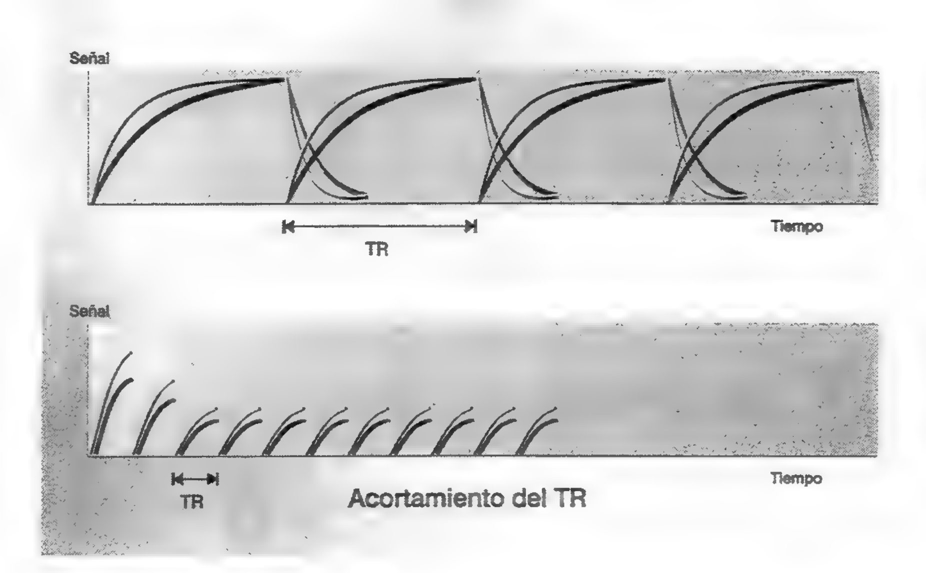


Formas de acortar el tiempo de adquisición

1. **Manejo del espacio K**
   - **Porcentaje de escán**
   - **Matriz rectangular**
   - ***Half Scan***
   - **Lectura de 2 o más líneas del espacio K en cada TR**
2. **TR más corto**

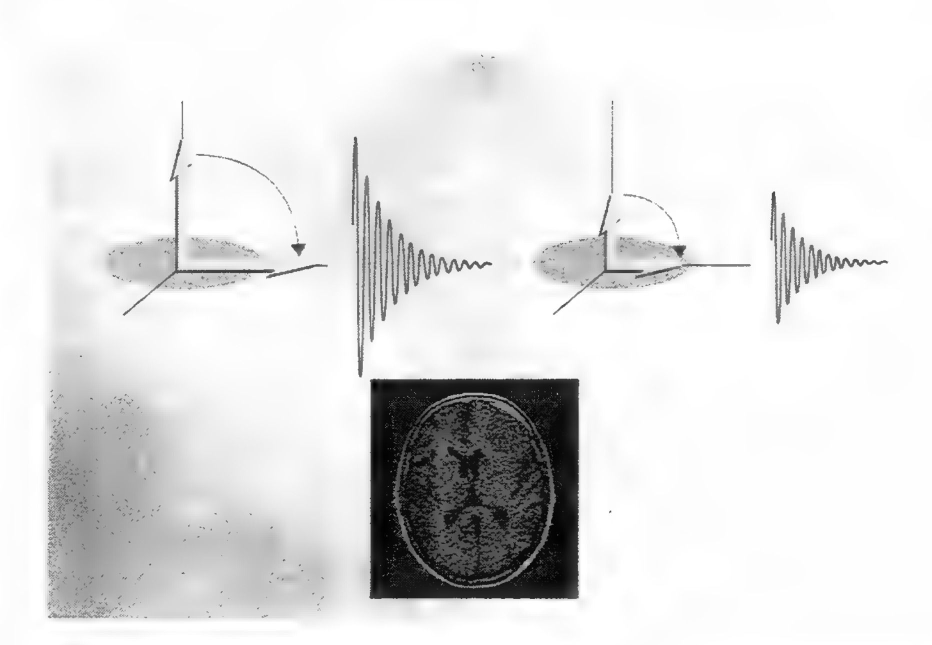
Las dos formas de acortar el tiempo de exploración son: un relleno parcial del espacio K con las diversas modalidades que ya se han visto anteriormente, o acortando el parámetro TR. Este intervalo hay que repetirlo tantas veces como líneas del espacio K se rellenen. Una excepción son las secuencias multieco que permiten un relleno de más de una línea en cada TR, como las secuencias Turbo.SE, eco-planar o GRASE.

A continuación vamos a tratar las secuencias que se basan en la reducción del TR, como son las secuencias de eco de gradiente con ángulo de inclinación limitado.

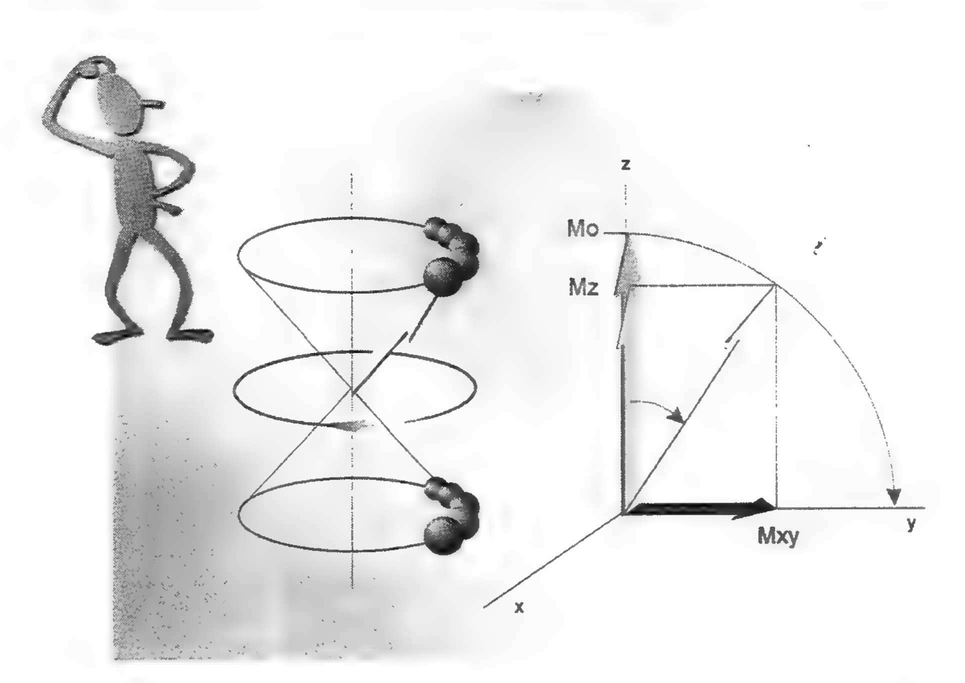


¿Qué sucede cuando se acorta el TR? En el gráfico superior se representan las curvas de recuperación T1 de dos tejidos tras la aplicación de pulsos de excitación de 90º, y un TR suficientemente largo como para que el vector Mz se recupere.

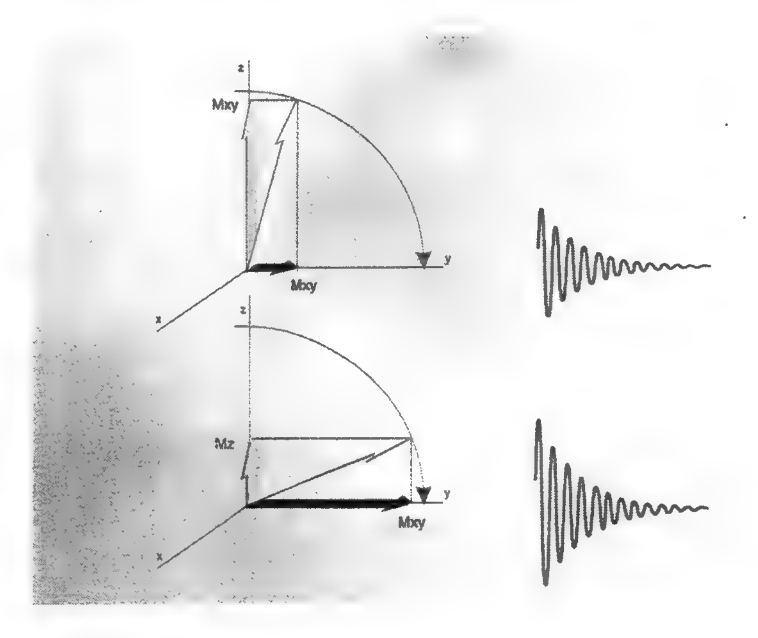
Como puede observarse en el dibujo inferior, si se aplican tiempos de repetición cortos la magnetización longitudinal no puede recuperarse y se estabiliza en valores muy pequeños. Esto se denomina saturación de la señal.



En la figura se muestra como un vector de menor tamaño produce una señal de RM más débil. La consecuencia en la imagen es una imagen con una S/R baja y un escaso contraste.

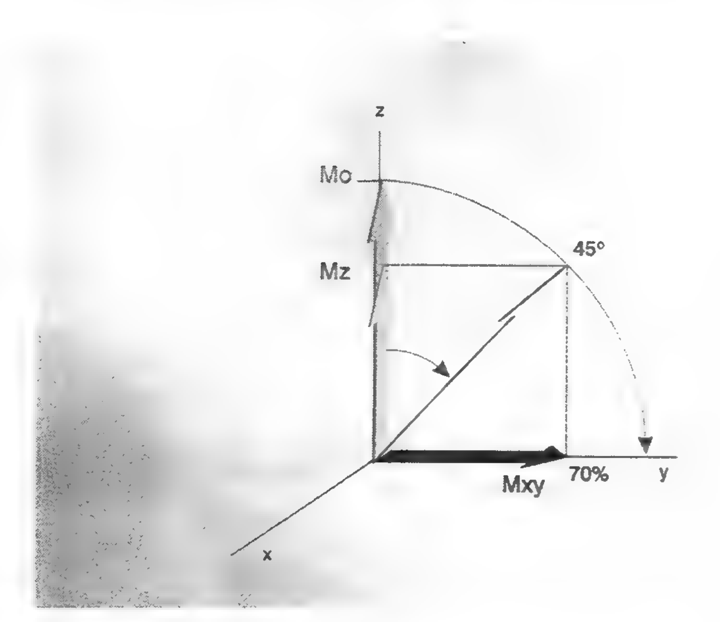


Pero a alguien se le ocurrió la brillante idea de utilizar angulos de inclinación menores de 90º. Esto permite la utilización de TR cortos sin efecto de saturación. En el dibujo de la derecha podemos ver, en primer lugar como inclinando el vector, por ejemplo 40º, el componente horizontal del vector (Mxy) es lo suficientemente grande para producir una señal aceptable y, en segundo lugar, como apenas disminuye el componente vertical (Mz). Esto quiere decir que la recuperción longitudinal se efectúa desde valores próximos a su valor máximo; por lo que la magnetización en reposo Mo (flecha verde oscura) se alcanza mucho más rápidamente. En las secuencias SE toda la magnetización longitudinal (Mz) se convierte en transversal (Mxy), mientras que en las secuencias de ángulo limitado sólo parte de Mz se convierte en Mxy.



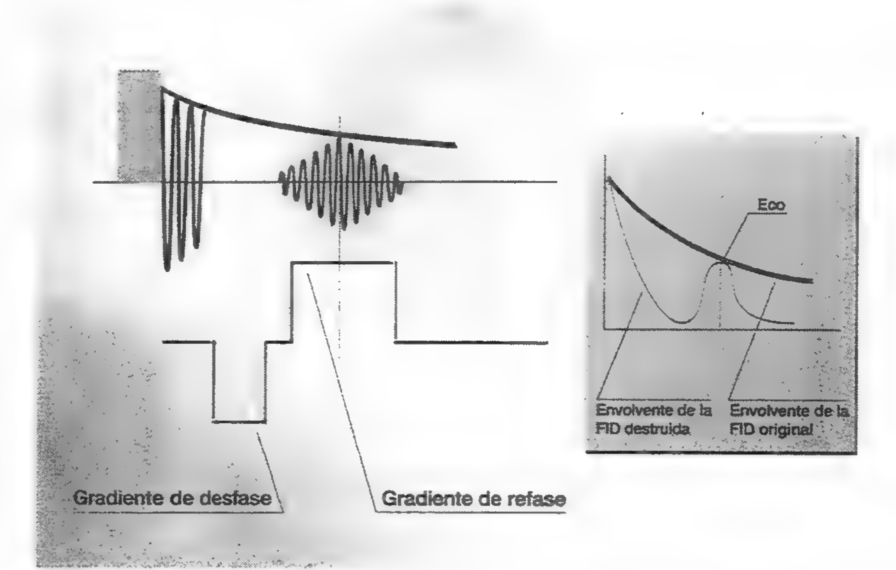
La inclinación del vector de magnetización *(flip angle)* varía normalmente en este tipo de secuencias entre 10º y 70º. Cuanto mayor es el ángulo, mayor es el componente transversal Mxy y, por lo tanto, la señal. El inconveniente de utilizar ángulos grandes es que se precisa de un tiempo más largo para la recuperación del componente Mz, y el TR no puede ser muy corto. Lo contrario sucede con ángulos pequeños: el TR puede ser muy corto, pero la señal es menor.

Parte VII SECUENCIA ECO



Contrariamente a lo que pueda parecer a primera vista, un ángulo de pequeño disminuye poco la componente longitudinal de la magnetización, pero crea una componente considerable de magnetización transversal. Por ejemplo, aplicando un pulso de 45º, Mz se recupera desde el 70% de su valor inicial, o lo que es lo mismo, únicamente tiene que recuperar un 30% (flecha verde oscura), y tarda un 70% menos en recuperarse. En este caso es posible acortar el TR, sin efectos de saturación.

Por otro lado, el vector Mxy (vector rojo) solo disminuye un 30% con respecto a la magnitud que tendría con un ángulo de 90º, con lo que la señal es bastante buena.



Otro aspecto fundamental de estas secuencias es que el eco no se obtiene mediante pulsos de refase de 180º como en SE, sino mediante gradientes. En la figura se representan el pulso de RF (pulso de excitación), la señal obtenida y el gradiente para producir el eco (Gx).

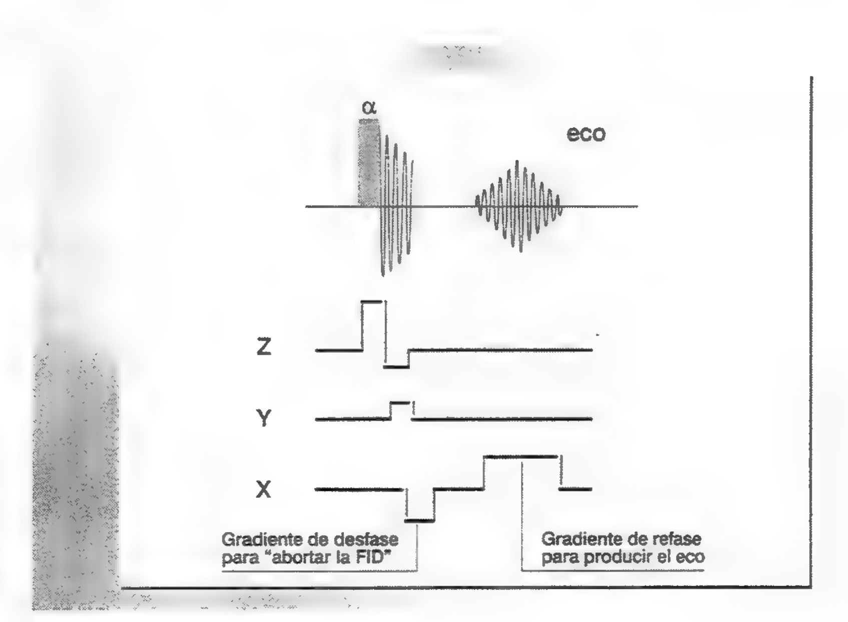
El gradiente se aplica por un espacio de tiempo limitado tras el pulso de RF, produciendo un desfase que "rompe" la FID. Cuando se invierte el gradiente, los espines que veían un campo positivo ahora lo ven negativo y viceversa. Esta inversión hace que se refasen los protones, dando lugar al eco. Este gradiente se aplica en la dirección de lectura o de codificación de frecuencia. El eco obtenido tiene la misma amplitud que tendría la FID si no se hubieran aplicado los gradientes, como se ve en el recuadro donde se representan las envolventes de la FID y del eco.

90º 180º A

α α B

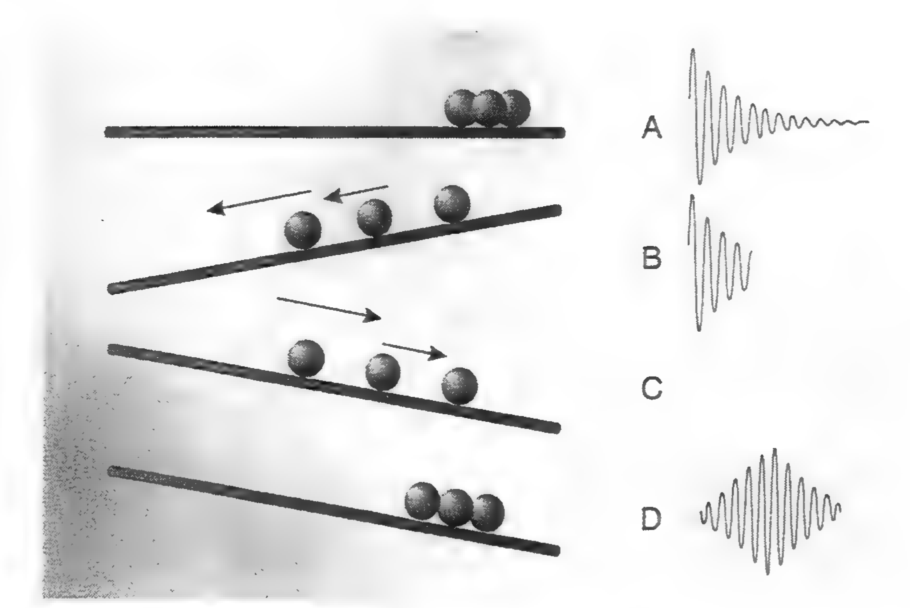
Puede observarse como en la secuencia de eco de gradiente (B) es posible acortar también de manera notable el TE, con respecto a la secuencia SE (A).

En SE la aplicación de un pulso de refase de RF ocupa un determinado tiempo y el TE es relativamente largo (no menor de 10-15 ms). En las secuencias de eco de gradiente la aplicación del gradiente de desfase y refase es mucho más rápido que la aplicación de un pulso de RF, y el TE puede acortarse notablemente (¡en las modernas secuencias EG y con los gradientes adecuados, se pueden aplicar TEs de menos de 1 ms!).





El esquema temporal básico de una secuencia EG muestra el gradiente de selección de corte (Z) que coincide con el pulso de RF, el gradiente de codificación de fase (Y), y el gradiente de lectura con un desfase inicial para destruir la FID, y un refase posterior para producir el eco.



De una manera gráfica e intutiva se puede explicar la como actúa el gradiente: Tras el pulso de excitación (A) los protones están en fase e inmediatamente se produce la FID. A continuación se aplica un gradiente que desfasa los protones (B) y "rompe" la FID. En este ejemplo utilizamos un simil no muy riguroso, representando el gradiente como un plano, que al inclinarlo "desfasa" los supuestos protones (B). Al inclinar el plano e sentido opuesto, en un momento determinado, (C) los protones vuelven a "juntarse" o se refasan produciendose una señal de eco (D).

Condicionamiento del contraste por T2*

- **En SE las heterogeneidades del CM se "invierten" y se anulan**
- **En EG la inversión del gradiente no compensa las heterogeneidades del campo magnético**
- **Se tienen que utilizar TE cortos porque la señal se degrada rápidamente**

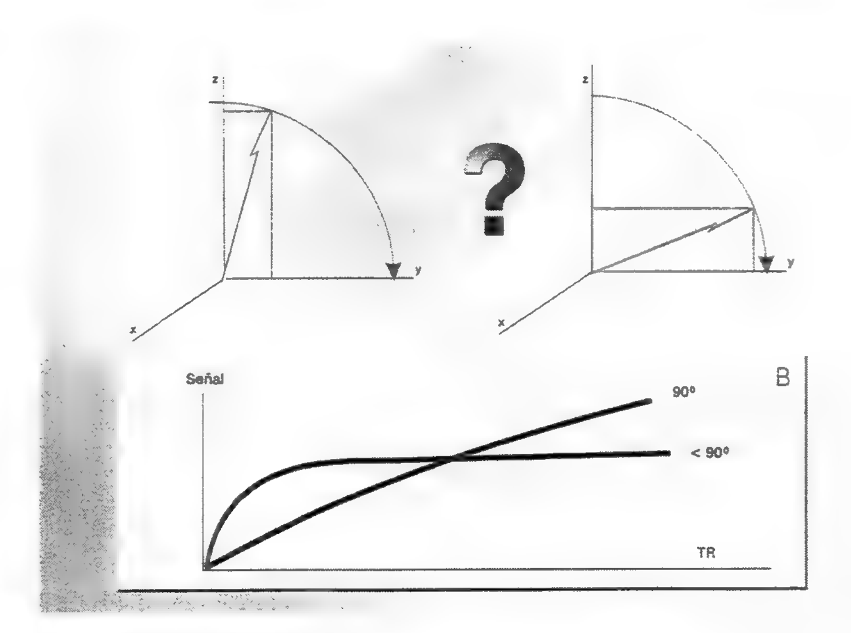
Una consecuencia importante es que la inversión del gradiente sólo refasa los protones que fueron desfasados por la acción del propio gradiente. Los desfases producidos por las heterogeneidades del campo magnético del imán, las diferencias de susceptibilidad entre tejidos o el desplazamiento químico no se corrigen en las secuencias EG, como ocurría en las SE. Por lo tanto, el contraste de la imagen está condicionado por T2* y no por el T2 de la muestra. T2* engloba la relajación natural T2 y todos los mecanismos de desfase producidos por las heterogeneidades de campo. Por este motivo, en las secuencias de eco de gradiente se deben utilizar TE cortos, porque todos los mecanismos de desfase mencionados condicionan un decaimiento muy rápido de la señal.

Secuencias de Eco de Gradiente

Sinónimos

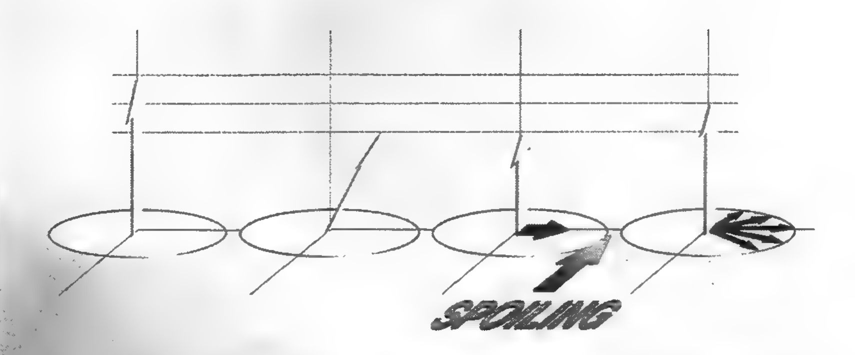
- **Eco de Gradiente**
- ***Gradient Echo***
- ***Gradient Reversal Echo***
- ***Field Echo***
- ***Fast Field Echo***
- ***Gradient Recalled Echo***

Resumiendo lo que hemos visto hasta ahora, las secuencias de eco de gradiente (EG) son la base de las secuencias rápidas. La razón principal es que se aplica un solo pulso de RF y, por lo tanto, se pueden usar tiempos de eco y de repetición más cortos. Además el ángulo de inclinación es variable, casi siempre menor de 90º, lo que permite acortar el TR. Desgraciadamente, los fabricantes de RM no se han puesto de acuerdo en la nomenclatura de las secuencias EG. ¿Cuál es la diferencia entre eco de gradiente, gradient recalled echo, gradient reversal echo y fast field echo? NINGUNA, todos los nombres se refieren a la secuencia EG básica. A lo largo del capítulo aparecerán otros nombres para secuencias en estado estacionario o ponderadas en T1 o T2.



¿Cómo se sabe cúal es el ángulo de inclinación más apropiado para que la S/R sea la adecuada?. Depende del TR que se utilice y del T1 de los tejidos. Para secuencias en las que no se establece un estado estacionario transversal (veremos posteriormente lo que significa estado estacionario), la señal de resonancia es máxima para el denominado ángulo de Ernst (α_E), que viene dado por la expresión: $\cos\alpha_E = \exp(-TR/T1)$.

Por ejemplo, en una una secuencia para cerebro donde el T1 medio es de 800 ms, el ángulo de Ernst es de 89º para un TR de 3000 ms; pero si TR es de 100 ms, el ángulo óptimo es de 28º.



Mxy persiste cuando TR < 50 - 100 ms y en tejidos con un T2 largo

En ocasiones, especialmente cuando el TR es muy corto y/o el T2 del tejido es largo, entre cada TR puede persistir parte del componente transversal de la magnetización (Mxy). Las secuencias EG más utilizadas destruyen la coherencia de este componente transversal que puede persistir en el momento del siguiente pulso de excitación, y "contaminar" el siguiente ciclo. Para asegurar que entre un ciclo de pulso y el siguiente no persista ningún componente transversal de la magnetización, se utiliza una técnica que la destruye, denominada spoiling. Es decir, mediante spoiling se asegura que toda la magnetización en estado estacionario apunta a lo largo del eje Z antes de que se aplique el siguiente pulso de excitación.

SPOILING

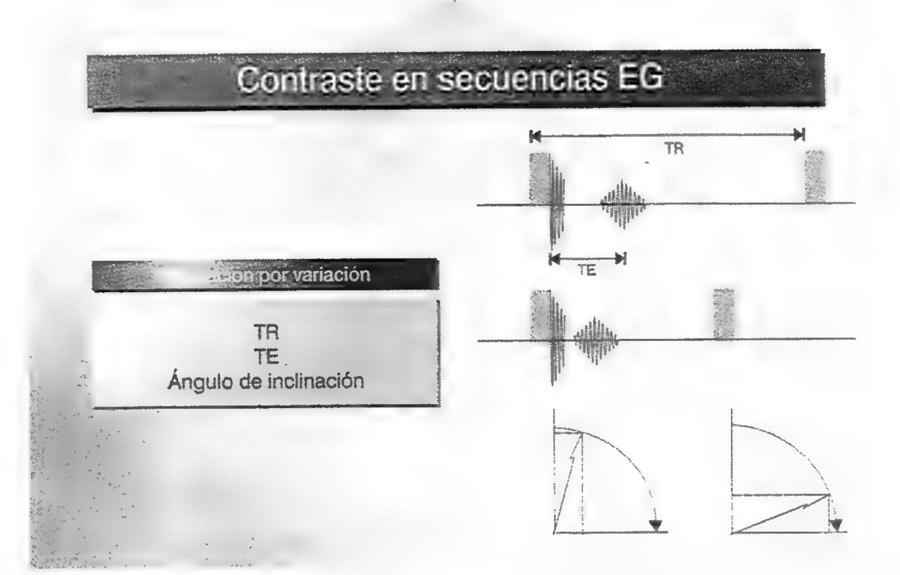
- **Destrucción de la magnetización transversal antes de cada pulso de RF (gradientes o RF)**
- **Asegura que solo existe magnetización en el eje z antes de cada pulso de RF**

Métodos para la destrucción de la magnetización transversal

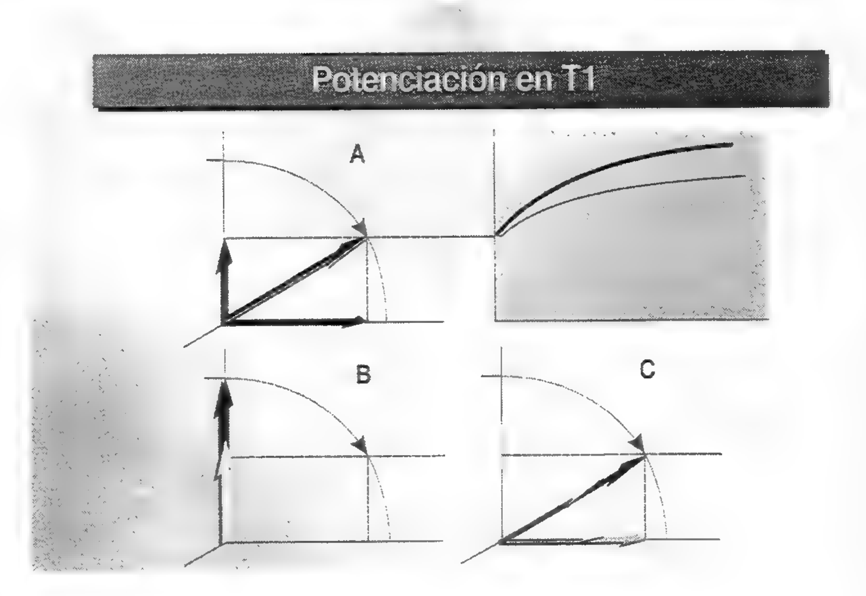
- **Spoiling de Gradientes**
- **RF Spoiling**
- **Alargar el TR > 200 ms**

Existen dos métodos para la destrucción de la magnetización transversal residual: 1) Spoiling de gradientes: al final de cada ciclo se conecta el gradiente de selección de corte, con una amplitud variable. La amplitud se puede variar linealmente o semialeatoriamente de ciclo a ciclo. Este método es poco eficiente en adquisiciones 3D. 2) Spoiling de RF: se varía semialeatoriamente la fase del pulso de RF de ciclo a ciclo. Para evitar distorsiones en la imagen, la fase del receptor tiene que cambiar de acuerdo con la del pulso. Este método es preferible al de gradiente porque no genera corrientes eddy y es espacialmente invariante.

Otra manera de evitar que persista Mxy es alargar el TR, de manera que la componente transversal desaparezca de manera "natural" por el desfase T2.



La elección de parámetros en secuencias ***EG-spoiled*** es un poco más complicada que en SE. El contraste se regula variando no sólo el TR y el TE, sino también el ángulo de inclinación. Dado que se destruyen las componentes transversales, las mejores potenciaciones para esta secuencia son T1 y densidad protónica (DP). El TR no tiene mucha influencia en el contraste y, en general, se utiliza el más corto posible. Para minimizar el efecto T2 hay que seleccionar TEs lo más cortos posible, típicamente entre 8 y 15 ms o lo más corto que permita la máquina para aplicaciones de angiografía o estudios en apnea. El ángulo se puede estimar según la ecuación de Ernst, y varía típicamente entre 20° y 45°, los valores pequeños acentúan la potenciación en DP y los mayores en T1.



Potenciación en T1. El dibujo muestra como un ángulo grande potencia en T1. Se muestran dos tejidos: uno con un T1 corto (rojo), y otro con un T1 largo (amarillo). Con el primer pulso (A) se inclinan ambos vectores. A continuación se produce la relajación T1 y el rojo se recuperará más rápidamente (B). En los siguientes pulsos (C) el tejido con un T1 corto tendrá un componente transversal mayor, y su señal será más intensa (vector rojo claro) que la del tejido con un T1 más largo (vector amarillo claro).

Técnica multicorte



Para TRs muy cortos (20-80 ms) la mejor potenciación en T1 se consigue con ángulos intermedios (Ernst), pero la técnica multicorte requiere TRs más "largos", que varían entre 100 y 500 ms, y el ángulo óptimo se sitúa entre los 60° y los 90°. La imagen en este último caso es parecida a la obtenida con una secuencia SE.

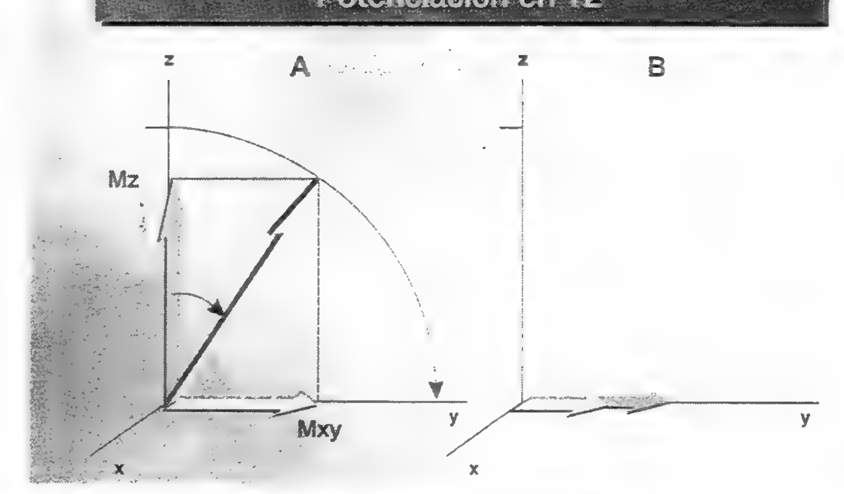
El TE tiene que ser lo más corto posible para evitar efectos T2. La DP con TRs "largos" necesita ángulos pequeños (5°-20°), para minimizar el efecto T1.

Tanto para T1 como para DP, el TE tiene que ser corto (5-15 ms).

En el ejemplo, en un TR se pueden excitar tres cortes contiguos.

La técnica multicorte se puede aplicar con otras muchas secuencias, como SE, IR, TSE, etc.

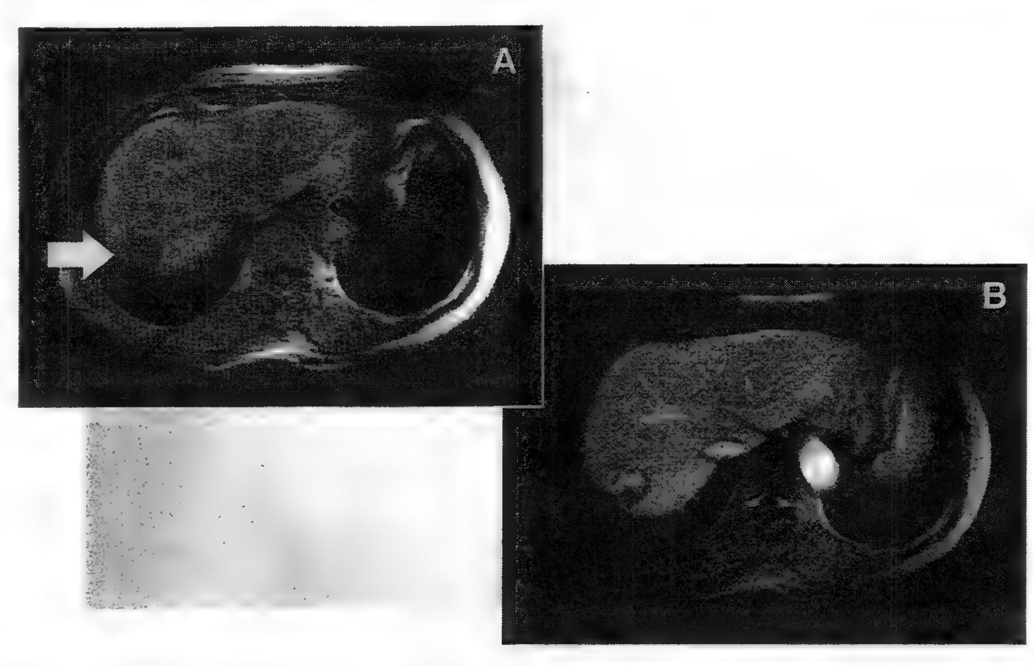
Potenciación en T2



Potenciación en T2. La secuencia ***EG-spoiled*** también se puede utilizar para obtener contraste T2*, aunque, como se verá más adelante, es mejor utilizar secuencias de estado estacionario coherente. Los parámetros para una secuencia ***EG-spoiled*** potenciada en T2* son: TR muy largo (300-500 ms), y ángulo de *flip* pequeño (5°-15°) para minimizar el efecto T1. El TE es "largo" (20-40 ms) para maximizar el contraste T2*.

Obsérvese en el esquema como el componente transversal de la magnetización es menor con ángulos pequeños (A). Estas imágenes tienen una S/R baja. Como el componente longitudinal tiene que recuperarse poco, se minimiza el contraste T1.

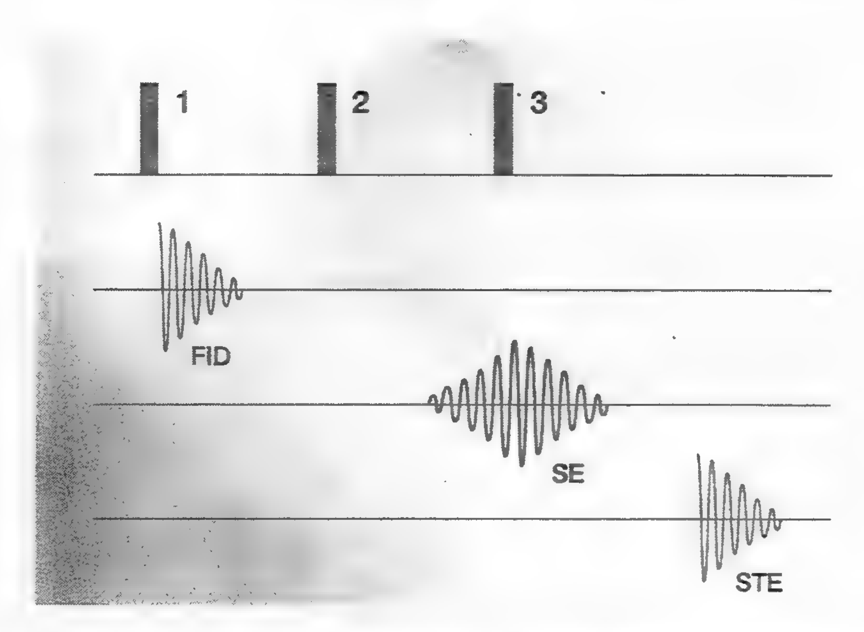
Aplicando un TE relativamente largo se manifiestan las diferencias en la relajación transversal T2 (B).



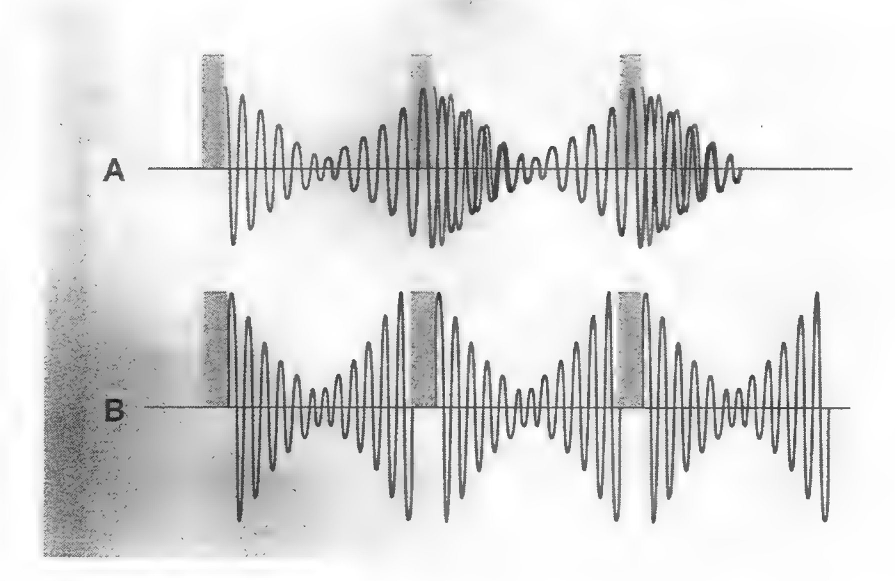
Ejemplo de secuencia ***EG-spoiled*** potenciada en T1 (A) para un estudio dinámico tras la administración de gadolinio endovenoso (B), de una masa hepática (flecha azul). El ángulo de inclinación es de 35º. El tiempo de adquisición es de 7,4 s por corte. El TR es de 9 ms, y el TE de 3,9 ms. La técnica es corte a corte, ya que un TR tan corto no permite una técnica multicorte.



Ejemplo de secuencia EG potenciada en T2*. Corte parasagital de rodilla. El TR largo (600 ms) permite una técnica multicorte (18 cortes: flecha blanca). El ángulo utilizado es de 25º (flecha verde). La matriz es de 256x256, pero se aplica un porcentaje de escán de manera que sólo se rellenan 205 líneas del espacio K (flecha roja). El resto, hasta 256 se rellenan con ceros. El tiempo de adquisición es de 4 min 8 s (en SE sería mucho mayor). La imagen tiene una potenciación en T2 *. Obsérvese la escasa señal de la médula ósea por susceptibilidad magnética (las interfases entre el calcio de las trabéculas óseas de la médula hace y la grasa o la médula roja hacen que el campo mágnetico sea heterogéneo y la señal decae rápidamente). El cuerno posterior del menisco interno muestra una rotura (flecha azul).

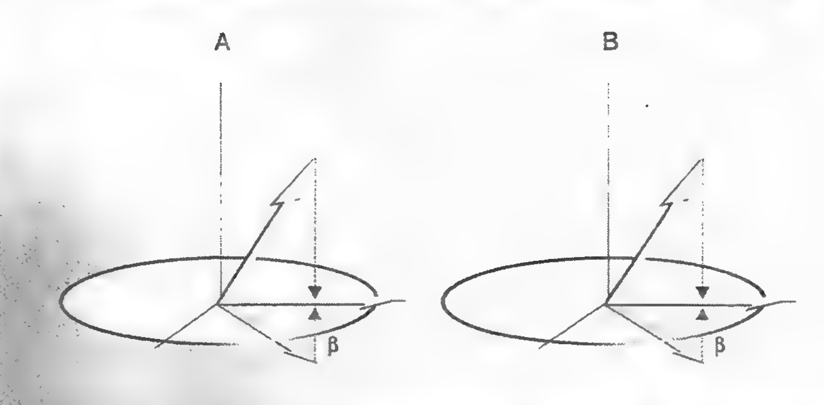


Antes de continuar con los diferentes tipos de secuencias EG es preciso ampliar algunos conceptos. En las secuencias EG se crean tres tipos de señales: 1º) la FID, que se genera tras el pulso de RF (verde), 2º) un eco de espín o SE (rojo), que se crea con dos pulsos de RF (pulsos 1 y 2). Y 3º) un eco estimulado (STE), que aparece tras tres pulsos de RF (azul). Como ya hemos visto, las secuencias EG utilizan el gradiente de lectura (Gx) para refasar los protones y generar la señal de resonancia y, por lo tanto, trabajan generalmente en el dominio de la FID. Pero existen secuencias EG un poco más complejas que utilizan conjuntamente la FID más los ecos estimulados para producir el eco. Estos tipos de secuencias EG se comentarán a continuación.



Además de las secuencias *spoiled* existe otro grupo de secuencias EG en las que no se destruye la magnetización transversal. En estos casos, cuando se utilizan TRs muy cortos, la situación se vuelve más compleja estableciéndose un estado estacionario para las magnetizaciones longitudinal y transversal, o estado estacionario para la precesión libre *(free-precession steady state o SSFP)*. En esta situación, se produce un SE cada par de pulsos de RF y un STE cada tres pulsos de RF. La cola de la FID de cada pulso de RF se superpone al SE, de manera que se produce una señal continua de amplitud variable (B) y se establece lo que se denomina un estado estacionario de la precesión libre.

Estado estacionario de la precesión libre



El estado estacionario de la precesión libre se produce únicamente bajo unas ciertas condiciones:

1º) El TR debe ser más corto que T2 para que el decaimiento no destruya la coherencia transversal. Como consecuencia se utiliza la modalidad corte a corte, no multicorte. 2º) Pulsos de RF con la misma fase en todos los ciclos. 3º) Las heterogeneidades de campo deben ser constantes. 4º) Los protones deben ser estacionarios o, si se mueven (flujo, etc.), se deben aplicar técnicas de compensación de movimiento.

Cuando se establece este estado, la magnetización, inmediatamente antes del pulso de RF, no apunta a lo largo del eje Z sino que está orientada oblicuamente y tiene un componente transversal que forma un ángulo β con el eje xy, como muestra la figura.

Estado estacionario coherente e incoherente

Secuencia *EG-spoiled*
(mal llamada de estado estacionario)



Estado estacionario incoherente
- **Contraste: T1, DP, T2***

Secuencias verdaderas de estado estacionario



Estado estacionario coherente
- **Contraste complejo**

Existe una cierta confusión en la terminología. Hay que distinguir entre lo que se denomina estado estacionario coherente e incoherente.

Aunque habitualmente se la considera de estado estacionario, estrictamente hablando, la secuencia ***EG-spoiled*** no debería ser así, porque no conserva la coherencia de la componente tranversal, por eso se denomina de estado estacionario incoherente.

Las secuencias de verdadero estado estacionario se denominan coherentes. Estas últimas se subdividen en dos grupos: las que utilizan solamente la FID o SS-FID, y las que utilizan las contribuciones SE/STE o SS-SE/STE, utilizando una nomenclatura dependiente del fabricante.



Corte axial de la rodilla con una secuencia SSFP

El líquido sinovial muestra una señal alta

Las secuencias más empleadas son las que utilizan la FID o SS-FID. La señal que se genera es muy difícil de explicar porque existen simultáneamente un componente transversal y otro longitudinal en estado estacionario al final de cada ciclo, y la repetición de pulsos de RF crea un intercambio de magnetización entre los dos componentes. La señal de RM es una suma de efectos que tiene lugar a lo largo de varios ciclos. Al contrario de lo que ocurre con la señal de SE o de *EG-spoiled*, la intensidad de señal en SS-FID tiene expresiones muy complejas, que incluyen términos lineales y exponenciales que dependen de T1, T2, T2*, T2/T1 y α. Estas secuencias producen una señal intensa en tejidos con una relación T2*/T1 grande (LCR y líquidos en general).

Potenciación en T2

Ángulo de inclinación pequeño



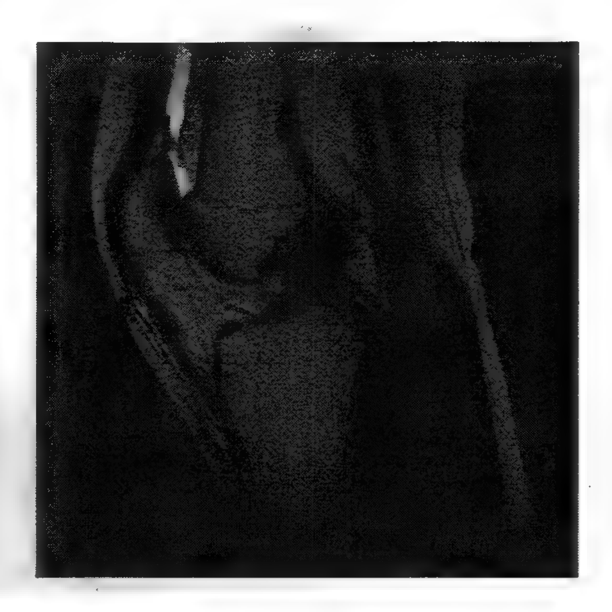
DP

Ángulo de inclinación grande



T2 / T1

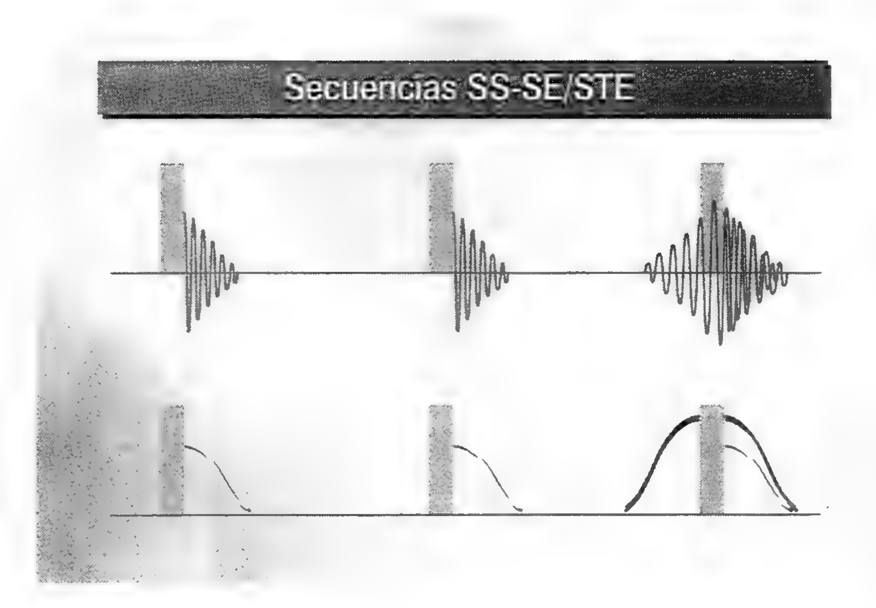
El contraste de las secuencias SS-FID depende sobre todo del ángulo α. Para valores pequeños de α ($\alpha<20°$) se obtienen imágenes ponderadas en DP. Para valores de α grandes ($\alpha>45°$) el contraste de la imagen es T2/T1. Cuando α es pequeño, la mayor parte de la magnetización en estado estacionario es longitudinal, independientemente del T1 o T2 del tejido. Por lo tanto, el contraste de la imagen dependerá sobre todo del valor de la magnetización en equilibrio, lo que refleja el número total de protones de la muestra. Para $\alpha<20°$ la imagen estará ponderada en densidad protónica.



Para valores de $\alpha > 45^{o}$ existe bastante intercambio entre las componentes transversal y longitudinal de la magnetización, y la señal neta depende tanto del T1 como del T2 de la muestra, más concretamente de la relación T2/T1. Para la mayoría de los tejidos sólidos, T1 es de 5 a 10 veces mayor que T2, pero para los fluidos T1 y T2 son aproximadamente iguales. Cuanto mayor es α, más intensa es la señal del LCR y de otros fluidos.

Obsérvese en esta imagen obtenida con este tipo de secuencia cómo brilla el líquido en el receso suprarotuliano de la articulación de la rodilla.

Secuencias SS-SE/STE



En las secuencias SS-SE/STE (que utilizan el eco de espín y el eco estimulado), el contraste es aún un poco más complejo que en las SS-FID, puesto que uno de los ecos que se utiliza para producir la imagen proviene un ciclo anterior.

La señal se obtiene con una inversión del gradiente de lectura como una señal normal de eco de gradiente. Esto quiere decir que la imagen tiene la misma sensibilidad a heterogeneidades de campo y susceptibilidad magnética que los ecos de gradiente que provienen de una FID.

Parte VII
SECUENCIA ECO



En las secuencias SS-SSE/STE el contraste es una función compleja de T1 y T2. Sin embargo, la posibilidad de tener TEs muy largos hace de esta secuencia la más apropiada para producir imágenes fuertemente ponderadas en T2. Los α pequeños producen una pérdida dramática de señal, mientras que los α altos causan deformaciones. Para α intermedios, las partes blandas pueden tener muy poco contraste entre sí, pero se enfatiza mucho la señal de cualquier lesión con T2 largo, como LCR, etc. El mayor problema de estas secuencias es su extrema sensibilidad a artefactos de flujo, incluso de flujo lento, en comparación con secuencias SE o TSE.

Imagen coronal de la rodilla con este tipo de secuencia. Se ha añadido saturación espectral de la grasa.

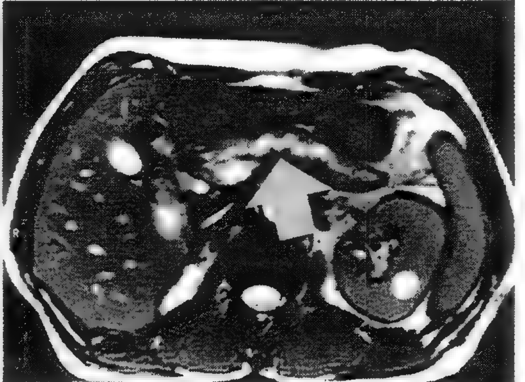
FISP - PSIF - DESS - True FISP - CISS

FISP	*Fast Imaging with Steady State Precession*
PSIF	Modificación de *FISP* (eco del pulso anterior; TE>TR)
DESS	Imagen suma de 2 imágenes *FISP* + *PSIF*
True FISP	Ecos de *FISP* y *PSIF* producidos al mismo tiempo (se recibe una señal combinada) *True FISP (Siemens)* *Balanced (Philips)* *FIESTA (General Electric)*
CISS	Adquisición separada de 2 secuencias *True-FISP*, con ángulos diferentes

Una variante bastante utilizada es la que superpone la señal de la FID y la de SE/STE para producir una sola imagen, desplazando las posiciones de eco respectivas al centro del ciclo. Se ha propuesto también otra técnica que omite uno de los pulsos de RF para poder adquirir el eco real de SS-SE/STE, evitando así los artefactos por heterogeneidades, desplazamiento químico y flujo.

Otra variante muy interesante de SS-SE/STE es una secuencia que adquiere tanto la señal de la FID como la señal del eco dentro del mismo TR, produciendo así dos imágenes. Se consigue este efecto combinando los gradientes necesarios para la secuencia SS-FID y la SS-SE/STE. En el cuadro se muestran varias secuencias de este tipo, la mayoría desarrolladas inicialmente por Siemens.



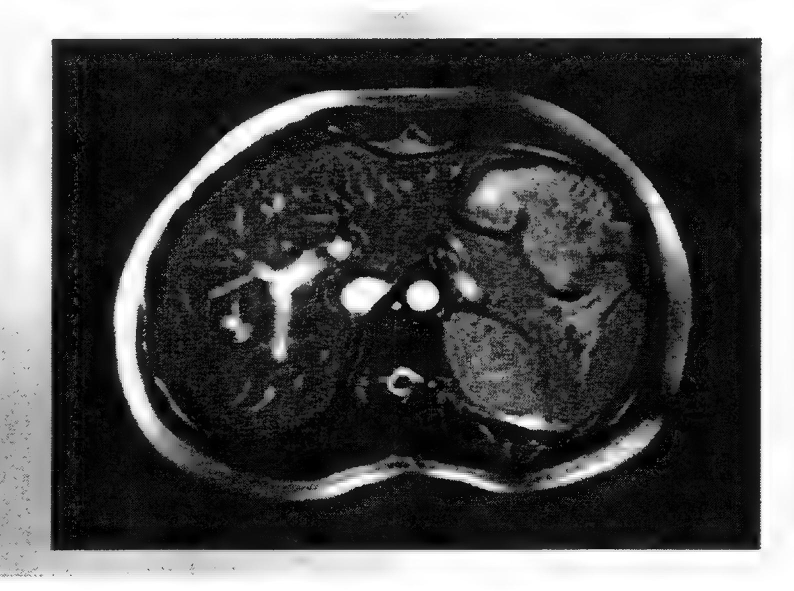


Ejemplo de secuencias en las que se utiliza la FID y la SE/STE. Se trata de una secuencia ***True-FISP***, con TR= 6,3 ms, TE: 3,0 ms y un tiempo de adquisición de 1 s por corte *(Cortesía de Siemens)*. Estas exploraciones se realizan en apnea y su duración depende del número de cortes. Obsérvese el tumor renal en la imagen de la izquierda y la dilatación del conducto pancreático en la imagen de la derecha.

La secuencia *True-FISP* es una secuencia que permite obtener imágenes rápidas con una potenciación en T2. En abdomen se pueden efectuar estudios de alta resolución en apnea.

Los gradientes se aplican en las tres direcciones del espacio, por lo que de manera inherente tiene una compensación de flujo.

Parte VII
SECUENCIA ECO



Otro ejemplo de secuencia en las que se utiliza la FID y la SE/STE para producir una sola imagen. Se trata de una secuencia denominada ***Balanced*** *(Cortesía de Philips)*. Obsérvese como las estructuras líquidas muestran una señal alta.

Estas secuencias pueden utilizarse tanto para técnica multicorte, como la mostrada en la figura, como para adquisiciones 3D.

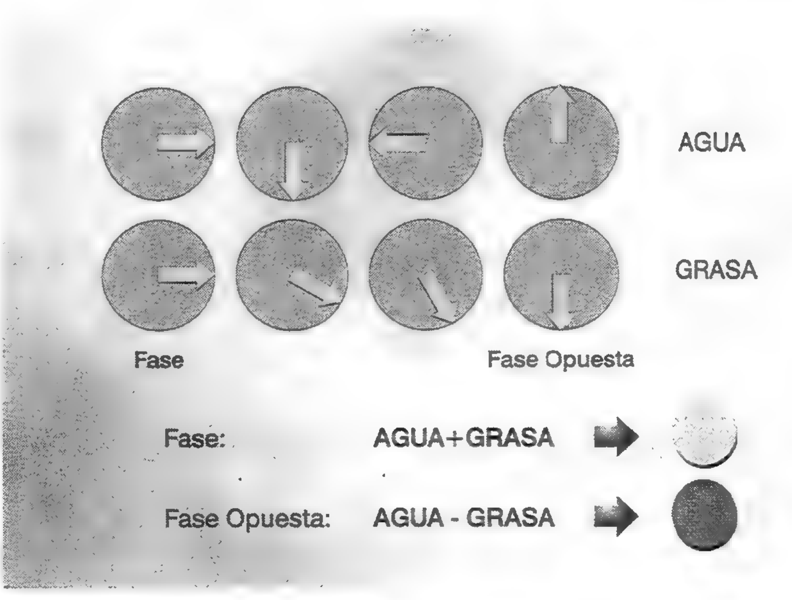
Secuencia ▶ Fabricante ▼	Spoiled GRE	SS GRE SE	SS GRE FID
Siemens	FLASH *Fast Low-Angle Shot*	PSIF *Fisp al revés*	FISP *FastImaging with Steady-State Precession*
General Electric	SPGR *Spoiled Grass*	SSFP *Steady-State Free Precession*	GRASS *Gradient-Recalled Adquisition in the Steady State*
Philips	CE-FFE-T1 *Contrast enhanced Fast Field Echo T1*	CE-FFE-T2 *Contrast enhanced Fast Field Echo T2*	FFE *Fast Field Echo*

En el cuadro quedan resumidas las diferentes siglas y acrónimos de las secuencias de eco más habituales, basadas en la FID o el SE, en los fabricantes *Siemens, Philips* y *General Electric*.

Variantes de la secuencia EG

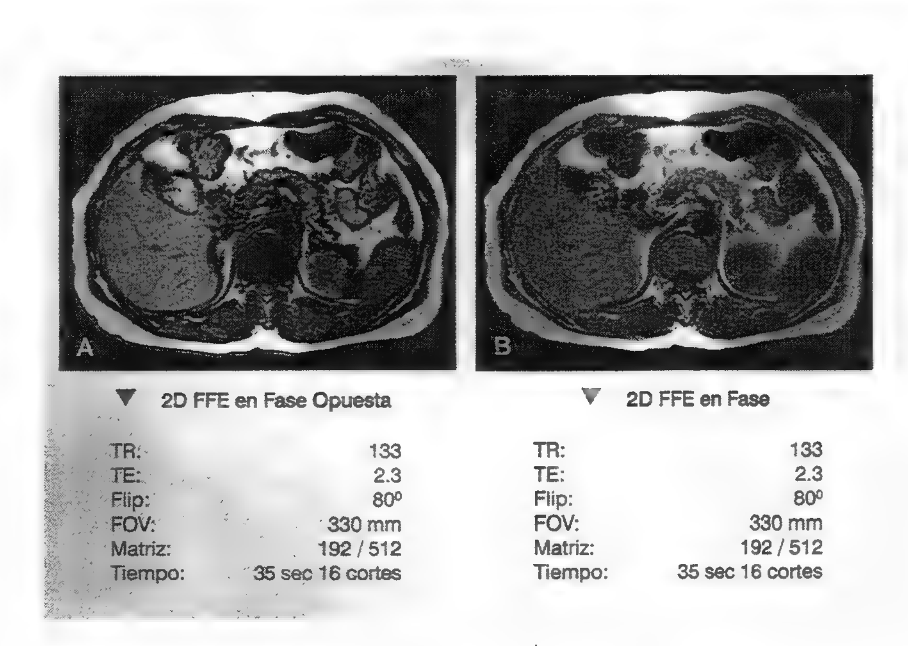
SE, FFE, GRE, MPGR, FE, PFI, GE, GFE, FLASH, TURBO FLASH, TFE, SMASH, SHORT, STAGE, SPG, IR, IR FGR, RF spoiled FAST, GFEC, 3D MP RAGE, T1-FFE, STAGE: T1W, FLOWCOMP, GMR, CFAST, MAST, FLAG; GMC, FC, STILL, SMART, GR o GE, SSFP, DE FGR, CE-FAST, true FISP, PSIF, ROAST, T2-FFE,STERF, GRASS, FGR, FISP, FAST, GFEC, F-SHORT, SAT, REST, PRE-SAT, BFAST, SATURATION, FATSAT, SPIR, CHEMSAT, RESCOMP, RSPE, PEAR, FREEZE, GRASE, TURBO SE, EPI, etc ...

En resumen, una gran mayoría de la infinidad de siglas de las secuencias de RM corresponden a secuencias EG. Estas forman un grupo de secuencias muy heterogéneo cuyas características comunes son la utilización de ecos de gradiente y ángulos limitados. La señal de eco puede provenir de la FID, del eco estimulado, del eco del espín, o de combinaciones entre ellos.
En las secuencias más complejas, el contraste puede ser difícil de reconocer, y en muchos casos se utilizan para el reconocimiento de los límites anatómicos, o para la demostración de líquidos, estacionarios o con flujo.
Sus aplicaciones principales son la obtención de imágenes en tiempos cortos (T2 en apnea, estudios dinámicos, estudios vasculares, cine, etc.)



Una aplicación de las secuencias de eco de gradiente *spoiled* son las secuencias de desplazamiento químico, que se basan en las distintas frecuencias de precesión de los protones de hidrógeno contenidos en las moléculas de agua y en la grasa (triglicéridos). Su utilidad es la detección de protones de agua y grasa en una misma estructura.

Esta técnica consiste en adquirir dos imágenes, con dos tiempos de eco diferentes. Una imagen se obtiene aplicando un determinado tiempo de eco, cuando las dos poblaciones de protones estarían en fase y por lo tanto suman sus intensidades. Con el otro tiempo de eco están en fase opuesta y las señales se restan, produciéndose una pérdida de señal en los vóxeles que contienen agua y grasa.



Imágenes obtenidas con secuencia EG (FFE, *Philips*), en fase opuesta (A) y en fase (B), en un equipo de 1,5T.

Obsérvese como la imagen en fase opuesta muestra un borde negro que contornea algunas estructuras. Esto es debido a que los vóxeles de estos bordes contienen agua y grasa (por ejemplo en el borde del hígado, los vóxeles que lo contornean contienen protones de agua del parénquima hepático y protones de grasa del peritoneo). Su señal se resta y estos vóxeles muestran una pérdida de señal. Este efecto, naturalmente, no existe en las imágenes obtenidas en fase.

Tiempo de eco para fase/fase opuesta en CM

Tiempos en ms

Intensidad del CM	FO	F	FO	F	FO
0,5 T	6,80	13,6	20,4	27,2	34,0
1,5 T	2,26	4,5	6,7	8,9	11,1

F : Protones en Fase
FO: Protones en Fase Opuesta

La periodicidad con la que ambas poblaciones de protones están en fase (F) y en fase opuesta (FO) depende de la intensidad del campo magnético. En un campo magnético más bajo, la frecuencia de precesión de los protones es menor, y la periodicidad mayor (cada 6,8 ms en un campo de 0,5 T)). Lo contrario sucede en un campo magnético más alto (cada 2,2 ms en 1,5T).

En el cuadro se indican los tiempos de eco para la fase y fase opuesta en campos magnéticos de utilización habitual: 0,5T y 1,5T.

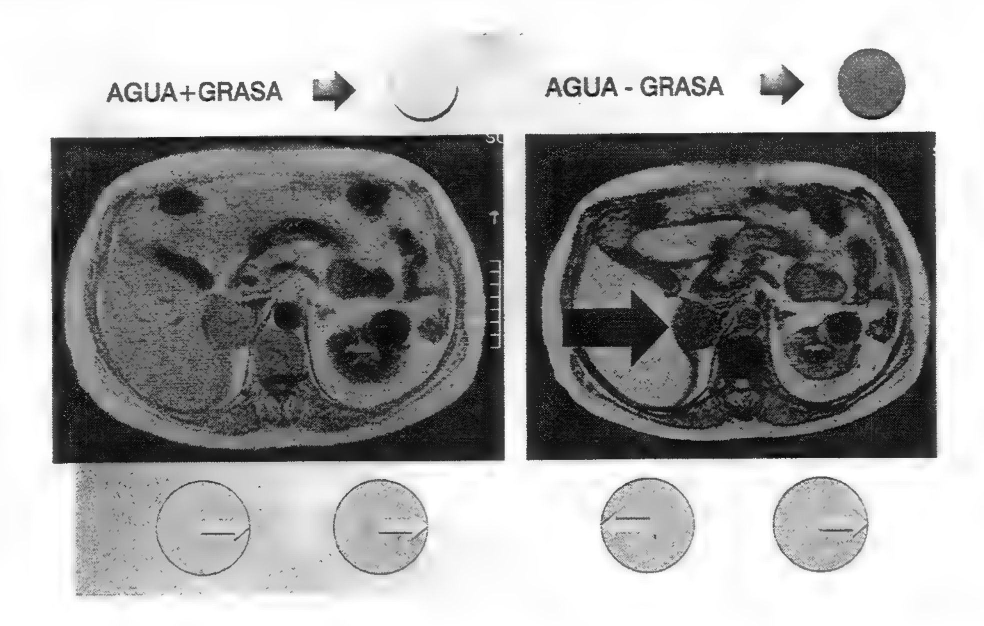
Parte VII. SECUENCIA ECO

Aplicaciones Diagnósticas
Lesiones que contienen agua y grasa

- **Adenoma adrenal (distinción adenoma-no adenoma)**
- **Mielograma adrenal**
- **Angio miolipoma renal, carcinoma renal**
- **Teratoma anexial**
- **Esteatosis hepática focal o difusa**
- **Tumores hepáticos**
  - **Lipoma**
  - **Adenoma**
  - **Carcinoma hepatocelular con metmorfosis grasa**
  - **Metástasis (adenocarcinoma mucinoso de colon, liposarcoma)**

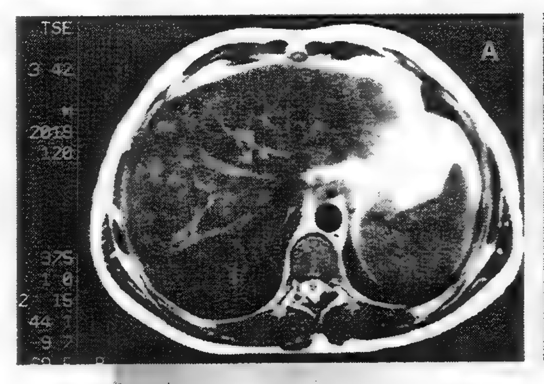
Las aplicaciones de la técnica incluyen todas aquellas circunstancias en las que sea útil la caracterización de un posible componente graso en una lesión. La proporción entre agua y grasa debe ser de un 30-70%.

Esta técnica no sirve para caracterizar lesiones que sólo contengan grasa, o por lo menos ésta esté presente en una gran proporción. Las lesiones mencionadas en la tabla pueden, en ocasiones, tener la grasa distribuida de manera que únicamente puede ser detectada mediante esta técnica.



En este ejemplo se muestra una de las aplicaciones principales de esta técnica: la distinción entre una masa adrenal por un adenoma o por una lesión no adenomatosa, como por ejemplo una metástasis. En este caso la fase opuesta demuestra una pérdida de señal (flecha roja), que traduce la presencia de grasa en la lesión. Se trataba de un adenoma adrenal.

Es importante señalar que para asegurar que la pérdida de señal sólo es por el contenido agua grasa y no por T2*, el TE de la fase-opuesta debe ser menor que el TE en-fase.





En este ejemplo se muestra otra aplicación de la técnica de fase y fase opuesta. Se trataba de un paciente VIH con nódulos hepáticos demostrados en ecogafía y mediante RM. La secuencia potenciada en T2 (A) muestra unos nódulos hiperintensos, sin características específicas, que puede corresponder a una afectación nodular por tumor, metástasis, infección, etc.

En la imagen en fase opuesta los nódulos pierden señal y se demuestra que se trata de una rara forma de infiltración grasa difusa en forma de nódulos.

Parte VII - 3

Secuencias Turbo Eco de Gradiente



Secuencia Turbo Eco de Gradiente

Secuencia EG con preparación de la magnetización

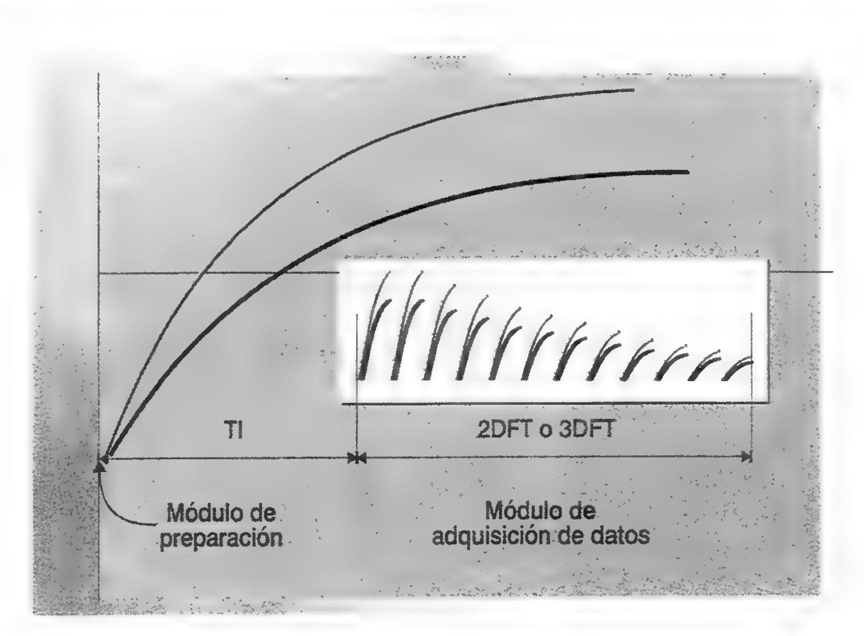
FGR	*Fast-Grass*
FSPGR	*Fast Spoiled-Grass*
MP-RAGE	*Magnetization-Prepared Rapid Gradient-Echo*
RAM-FAST	*Rapidly Acquired Magnetization-Prepared FAST*
TFE	*Turbo Field-Echo*
TurboFLASH	*Turbo Fast Low-Angle Shot*

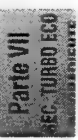
Anteriormente hemos visto cómo se puede utilizar un pulso de inversión de 180º para manipular el contraste de la imagen (secuencia IR).

Existe un grupo de secuencias de eco de gradiente en el que la magnetización se prepara aplicando un pulso de 180º que invierte la magnetización. Hay otras formas de preparar la magnetización, pero la inversión es la utilizada para la potenciación en T1. Posteriormente se efectúa la adquisición de datos, utilizando un TR y un TE muy cortos.

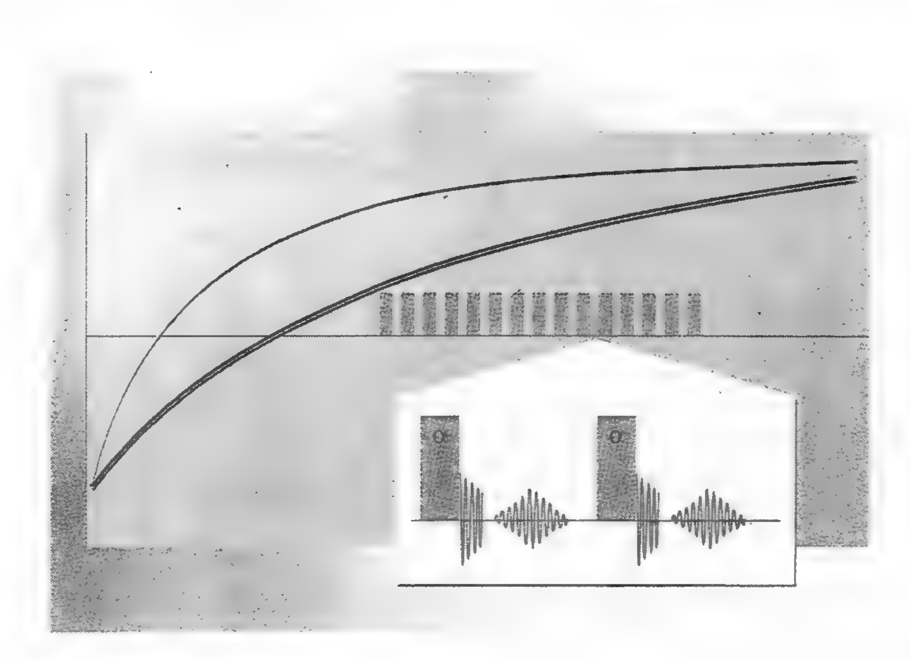
Con estas secuencias es habitual adquirir cortes en un segundo o menos.

Las diferentes siglas y acrónimos de este tipo de secuencias se muestran en la figura. La mayoría son equivalentes, la denominación depende del fabricante.



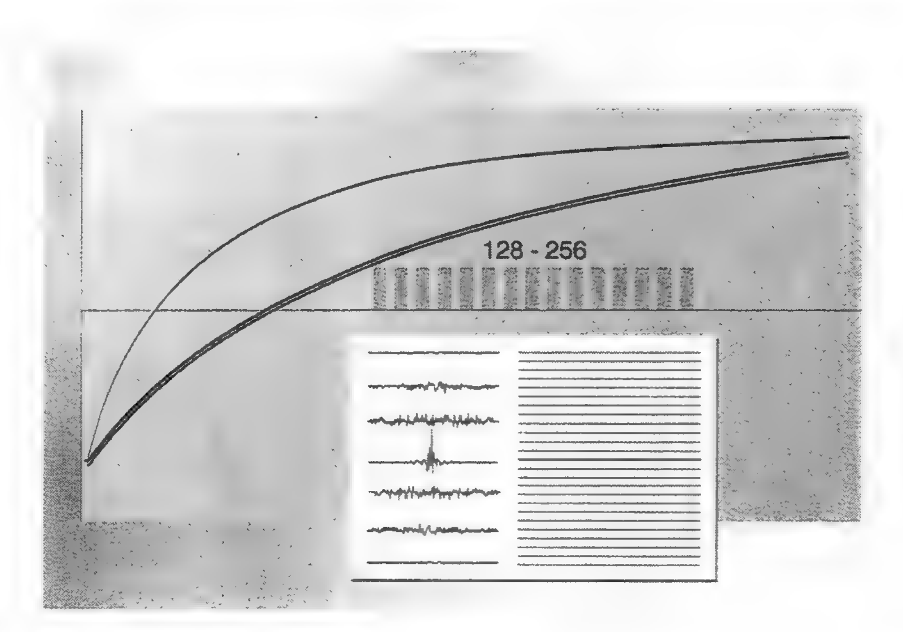


Tras el pulso de 180º la magnetización longitudinal se recupera durante un periodo denominado tiempo de inversión. Posteriormente se inicia la adquisición de los datos, este periodo se denomina módulo de adquisición. La diferencia fundamental entre las secuencias EG y las turbo-EG es que en las primeras los datos se adquieren mientras las magnetizaciones (longitudinal y transversal) están en estado estacionario *(steady state)*, mientras que en turbo-EG los datos se adquieren mientras la magnetización evoluciona y alcanza progresivamente el estado estacionario (recuadro gris). En turbo-EG todo sucede muy rápidamente, y no da tiempo a que se alcance el estado SS.



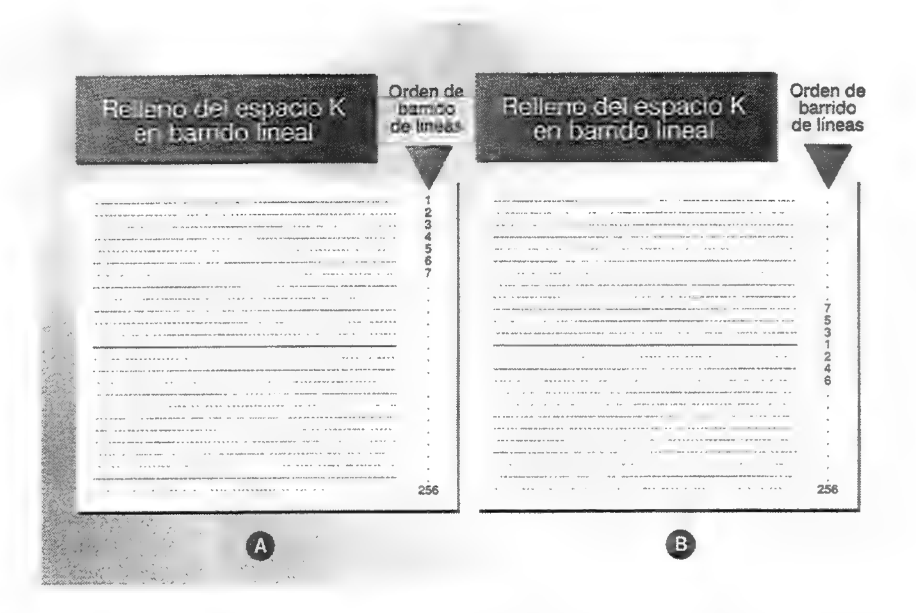
En este tipo de secuencias se pueden realizar módulos de preparación de diferentes maneras, según se pretenda obtener una potenciación en T1, T2, flujo, o difusión. El método más comúnmente utilizado es el de inversión, como el que muestra el esquema, para una potenciación en T1.

Se puede observar cómo en el módulo de adquisición de datos (los pusos de RF y los ecos) es muy rápido, durante la recuperación de la magnetización. En esta secuencia son habituales TRs de 7-10 ms y TEs de 3-5 ms. Naturalmente, con estos parámetros la técnica de adquisición es corte a corte.



Si se adquieren todas las codificaciones de fase en el módulo de adquisición (desde 128 hasta 256, para un relleno total de matriz), la secuencia se denomina *single shot* (disparo único). Tras un único módulo de preparación se adquiere toda la imagen.

El parámetro TI es el tiempo transcurrido entre el pulso de preparación y la adquisición de la línea central del espacio K (máximo contraste).



El espacio K se puede rellenar de un extremo a otro (A), comenzando por la codificación de fase extrema −128, pasando por la 0 para finalizar en la +127. Esto se llama barrido *LINEAR* (lineal).

Si se obtiene en primer lugar la codificación de fase central y posteriormente de manera alternativa se rellenan las lineas adyacentes (-1,+1,-2,+2,-3,+3,... etc.) hasta alcanzar los extremos (B), el barrido se denomina *LOW-HIGH* (bajo-alto).

En las figuras adjuntas se muestra el orden de barrido de líneas en cada caso.

Parte VII
SEC. TURBO ECO

Modificación del contraste por variación de TI

TI = 400 ms

A

TI = 700 ms

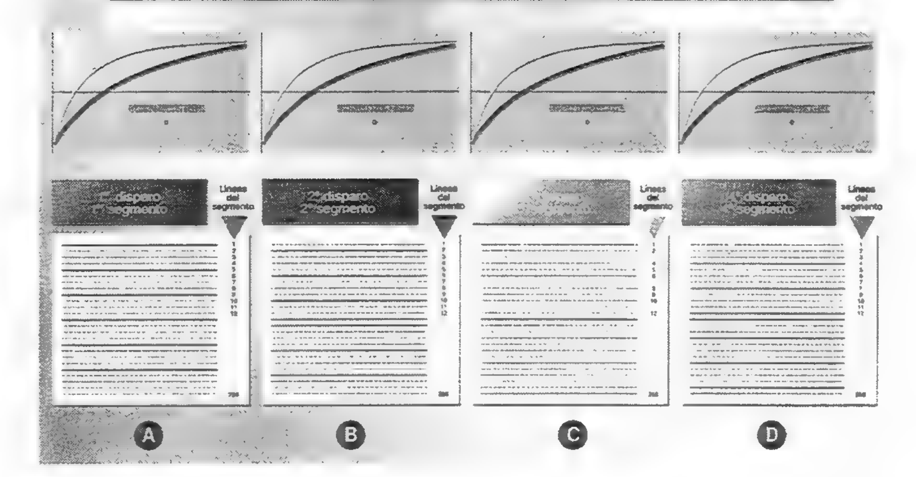
B

Variando el TI se puede modificar el contraste. Obsérvese como es posible atenuar, o incluso anular la señal de algún tejido (tejido representado por la línea roja en A, con un T1 más largo que el amarillo), si la codificación de fase central coincide con el valor 0 de su magnetización longitudinal durante la recuperación.

En B el TI es más largo y el contraste es diferente, pues los dos tejidos dan señal.

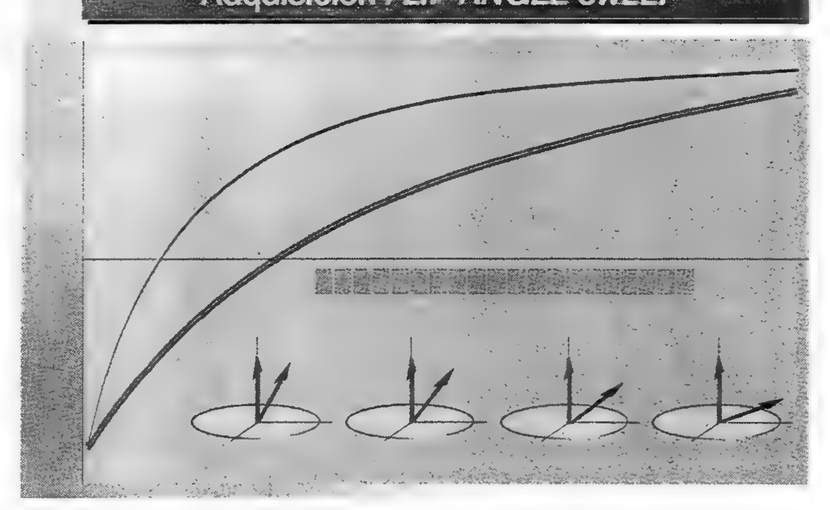
El barrido bajo-alto se utiliza cuando se selecciona un TI corto, por ejemplo, para atenuar la señal de la grasa.

Adquisición por disparos múltiples *(MULTI SHOT)*



Otra forma de adquisición es la denominada *MULTI SHOT* (disparos múltiples), en vez de *single shot*. En esta modalidad el espacio K se rellena en segmentos (normalmente entre dos y cuatro). Por ejemplo, podemos rellenar una matriz de 128 de cuatro disparos. En cada uno se aplican 32 pulsos de excitación y se recogen 32 ecos; cada segmento tiene 32 líneas. Cada disparo o *shot* tiene su propio pulso de preparación de 180º. El tiempo de exploración se alarga por este motivo y porque entre cada disparo hay que dejar un espacio *(TD o time delay)* para que la magnetización se recupere y vuelva a su estado de relajación. Esta modalidad es útil para potenciar el efecto de pulso de preparación, permitiendo acortar el TI sobre la técnica *single shot*.

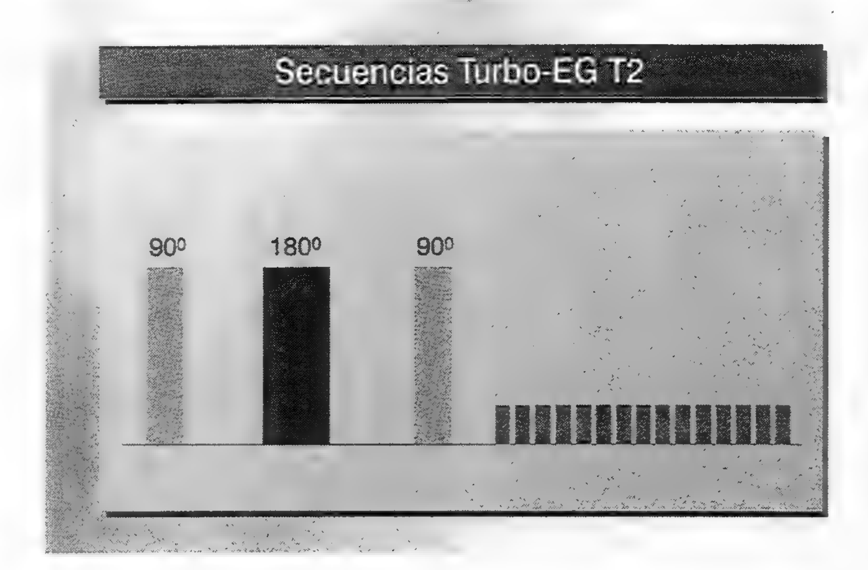
Adquisición *FLIP ANGLE SWEEP*



Algunos fabricantes utilizan una modalidad consistente en variar el ángulo de excitación durante la adquisición, aumentándolo progresivamente. Esto de denomina *FLIP ANGLE SWEEP*. El ángulo acaba siendo mayor que el seleccionado en los parámetros de la exploración.

Esta variación del ángulo de inclinación permite mantener el contraste previsto con el módulo de preparación, disminuir los artefactos, y aumentar la S/R.

Si el ángulo de excitación es constante, se pueden producir artefactos fantasma *(ghost artifacts)*. Este artefacto se evita con la variación del ángulo.



Una variante de esta secuencia para obtener imágenes potenciadas en T2, apenas utilizada, es la denominada DEFT *(driven equilibrium)*, en la que el módulo de preparación consiste en una sucesión de pulsos: 90° / 180° / - 90°.

Dependiendo de la fase relativa de los pulsos de RF la magnetización se alinea en la parte positiva del eje Z *(driven equilibrium)*, o a lo largo del eje negativo *(driven inversion)*.

Indicaciones de la secuencia Turbo-EG

- Imágenes localizadoras
- Estudios abdominales con respiración mantenida
- Estudios dinámicos
- Realce de contraste de algunos tejidos por atenuación de otros
- Adquisiciones 3D
- Estudios cardiovasculares

La principal indicación de la secuencia Turbo-EG es la adquisición de imágenes rápidas con posibilidad de manejo del contraste. Es especialmente útil en abdomen por la escasa presencia de artefactos por movimiento, aun adquiriéndose sin respiración mantenida.

Es una secuencia apropiada para la adquisición en modalidad 3D e imágenes potenciadas en T1, especialmente en el cráneo.

Actualmente sus aplicaciones para los estudios vascular y cardiaco son limitadas, siendo sustituidas por otras técnicas y secuencias.

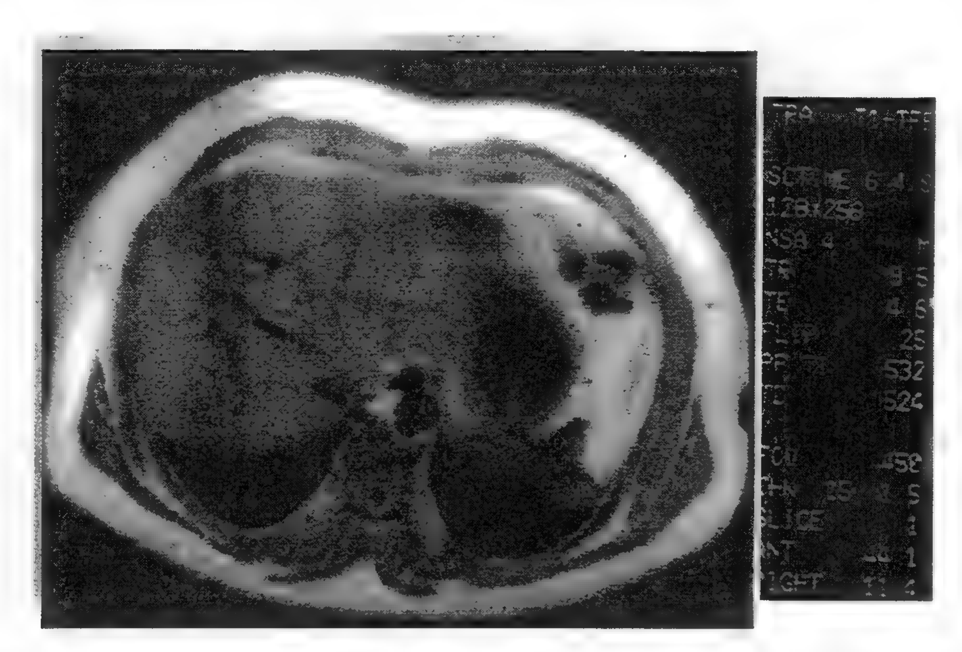
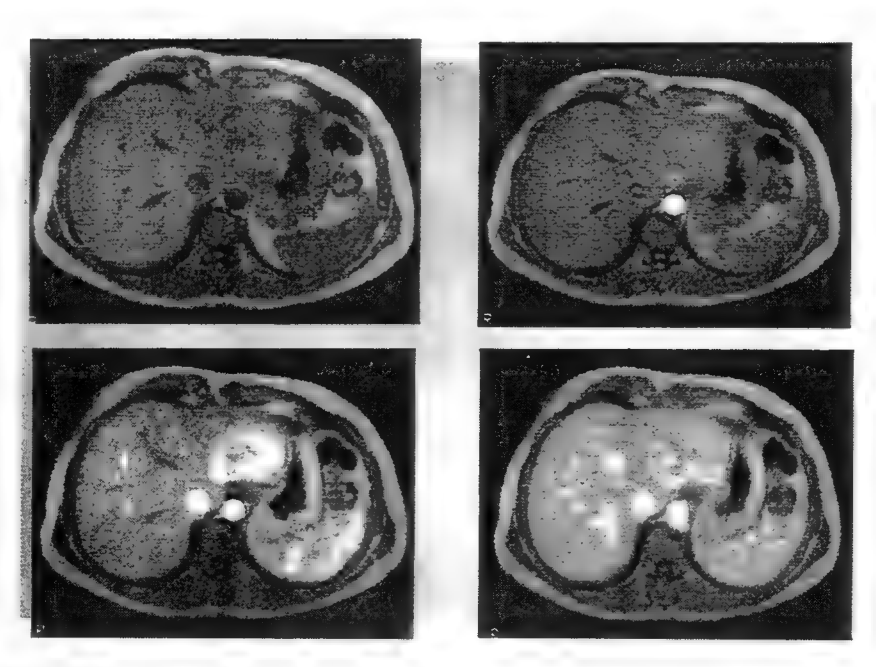


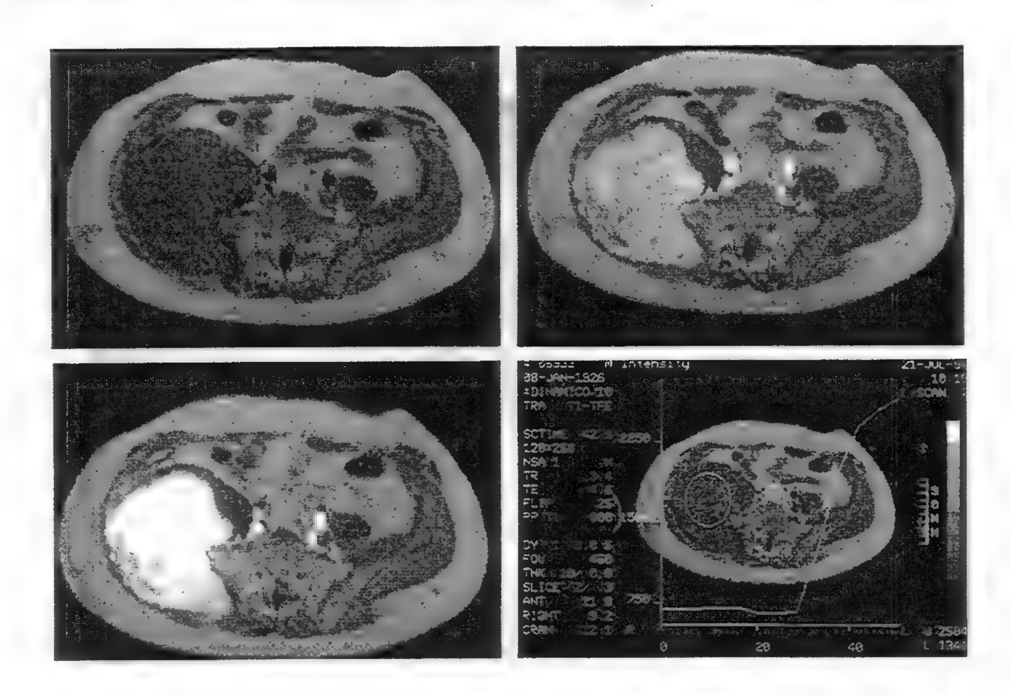
Imagen adquirida con una secuencia TFE potenciada en T1 con una matriz de 256 y un porcentaje de escán del 50% (128x256). El TR =9,5 ms y el TE=4,6. El ángulo seleccionado es de 250. El TI es de 524 ms. Se ha utilizado la técnica *multishot*, con un TD de 450 ms. Con dos adquisiciones (2 NEX) el tiempo de adquisición de cada corte es de 3 s.

Como puede observarse en este ejemplo, la secuencia TFE, en general, es poco susceptible a los artefactos por movimiento, especialmente por el TR tan corto utilizado.



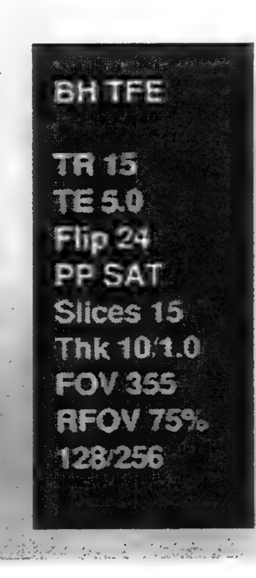
Estudio dinámico con gadolinio de un tumor hepático localizado en los segmentos 2-3. Se ha utilizado una secuencia TFE-T1 *single-shot*. El tiempo de adquisición es de 1 s por corte.

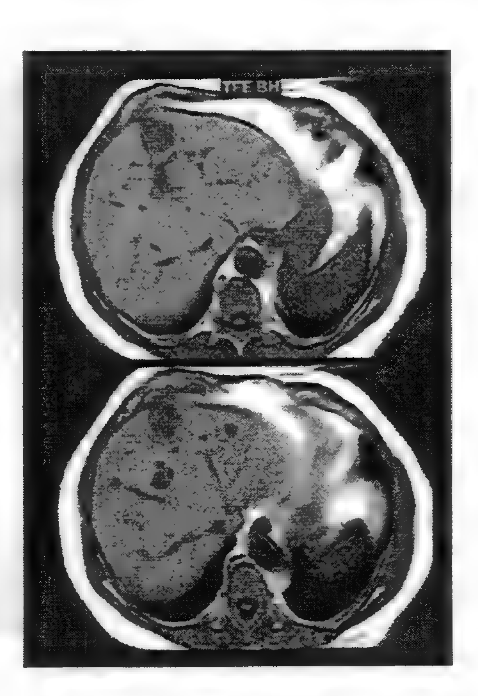
Se observa claramente la hipervascularización arterial del tumor con un marcado realce en esta fase, una pequeña cicatriz central, y el lavado rápido del medio de contraste. Se trataba de una hiperplasia nodular focal.



Estudio dinámico con gadolinio de una masa pélvica por una recidiva de un tumor óseo maligno. Los parámetros figuran a la izquierda de la última imagen. El tiempo total de exploración se debe al número de cortes y a que se ha utilizado técnica *multi-shot*.

Al igual que en la TC, se puede obtener un gráfico de la curva de tiempo-intensidad para el análisis de la captación.





Imágenes adquiridas en apnea con TFE T1. Obsérvese el TR y TE cortos, así como un FOV rectangular del 75% y un porcentaje de escán del 50% (128x256). Esto permite tiempos de adquisición de 1 s por corte.

Parte VII - 4

Secuencias Turbo Espín-Eco



Secuencia Turbo Espín-Eco

TSE
Turbo Spin-Echo

o

FSE
Fast Spin-Echo

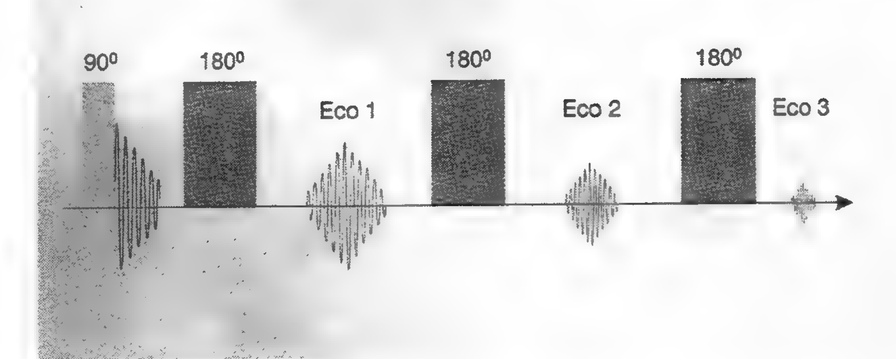
La secuencia *Turbo Spin-Echo* o *Fast Spin-Echo* supuso un avance de relevancia excepcional en el desarrollo de las secuencias rápidas en la IRM y sus aplicaciones clínicas.

Las dos denominaciones que recibe esta secuencia, según los fabricantes, son TSE o FSE.

Se basa en la secuencia SE multieco convencional, adquiriéndose más de dos ecos tras cada pulso de excitación.

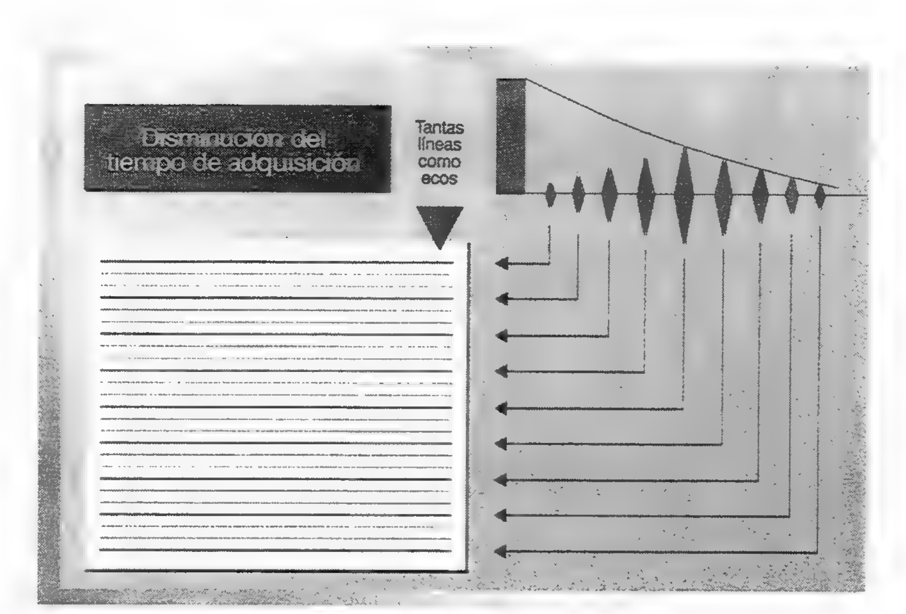
Parte VII
SEC. TURBO

Ciclo de pulsos de la secuencia TSE



La secuencia TSE es una secuencia rápida desarrollada comercialmente a partir de la secuencia RARE, como modificación de la secuencia SE multieco. La secuencia RARE *(Rapid Acquisition with Relaxation Enhancement)*, fue desarrollada por Henning y colaboradores en la universidad de Friburgo, apareciendo la primera publicación sobre sus aplicaciones clínicas en el año 1986.

El ciclo de pulsos de esta secuencia está formado por un primer pulso de excitación de 90º, seguido de varios pulsos de refase de 180º. Tras cada pulso de 180º se adquiere un eco.

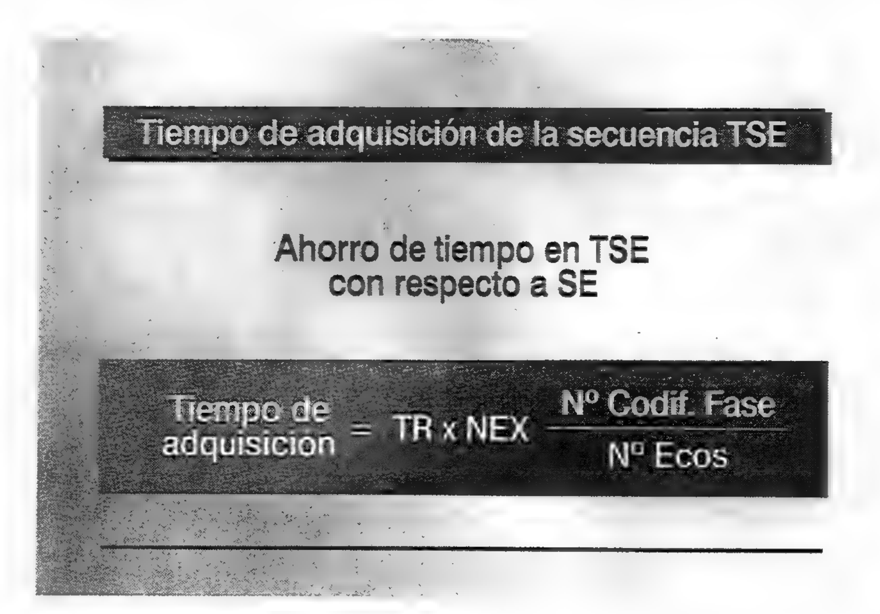


La característica básica de esta secuencia es que cada eco de un mismo TR se codifica con una fase distinta. Por lo tanto, en cada TR se rellenan tantas líneas del espacio K como ecos. Típicamente, en la utilización convencional de la secuencia, se adquieren entre 4 y 32 ecos (siempre más de 2), aunque pueden llegar a 256 en su modalidad *single-shot*.

La consecuencia inmediata es una disminución drástica del tiempo de adquisición, en teoría proporcional al número de ecos del TR

En la secuencia SE convencional cada eco, uno o dos, obtenidos en un TR tienen la misma codificación de fase; cada línea del espacio K se adquiere en un TR distinto.

Parte VII SEC. TURBO



El factor de aceleración de TSE depende del número de ecos por cada TR. Cuanto mayor es el número de ecos, en proporción es menor el tiempo de adquisición. En la práctica esto no es así, ya que intervienen otros factores: el TR, la capacidad multicorte, el espaciado entre ecos, etc, que hacen que la disminución del tiempo de exploración no esté en relación directa con el número de ecos.

102

Parámetros seleccionables en secuencias TSE

- Factor turbo, tren de ecos
- TR
- Espaciamiento entre ecos
- TE efectivo
- Tipo de barrido del espacio

El número de parámetros seleccionables es mayor que en una secuencia SE convencional, y se describirán a continuación. En esta secuencia se manejan fundamentalmente no sólo el TR y el TE, sino también el número de ecos y el tipo de relleno del espacio K.

Número de ecos en cada TR

Factor Turbo (FT)
(factor de aceleración)

o

Longitud del tren de ecos
Echo Train Length (ETL)

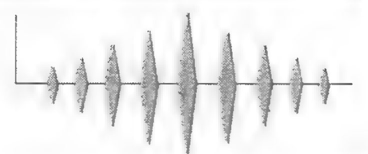
$4 \leq$ FT = ETL ≤ 512

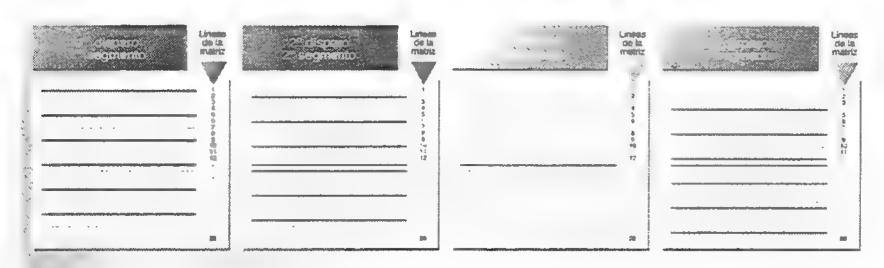
El número de ecos en cada TR se denomina longitud del tren de ecos, *Echo Train Lenght*, ETL, factor turbo o FT.

Este parámetro es el factor de aceleración principal. El FT puede variar entre 4 y 512 según la potenciación de la imagen, el tipo de barrido del espacio K y la modalidad de disparo múltiple o disparo único.

Adquisición por disparos múltiples *(MULTI SHOT)*

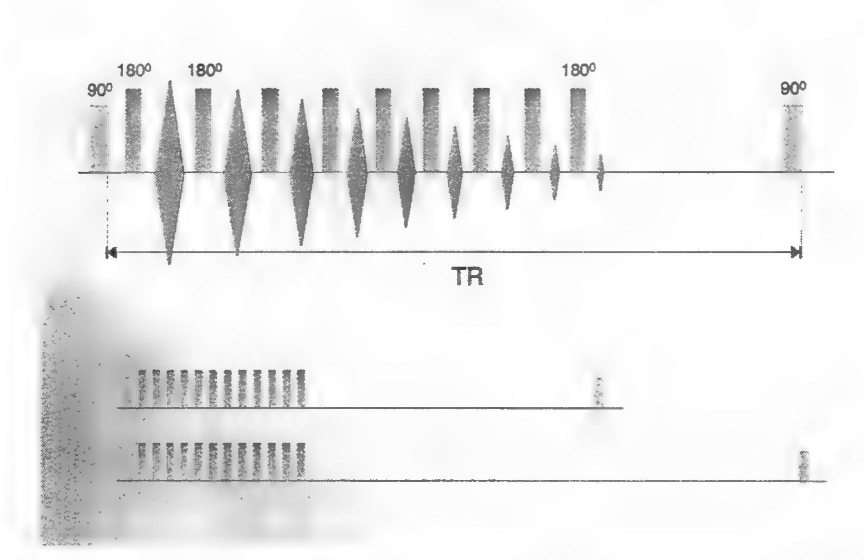
Ej: Matriz de 28 líneas
28 codif. fase
FT 7



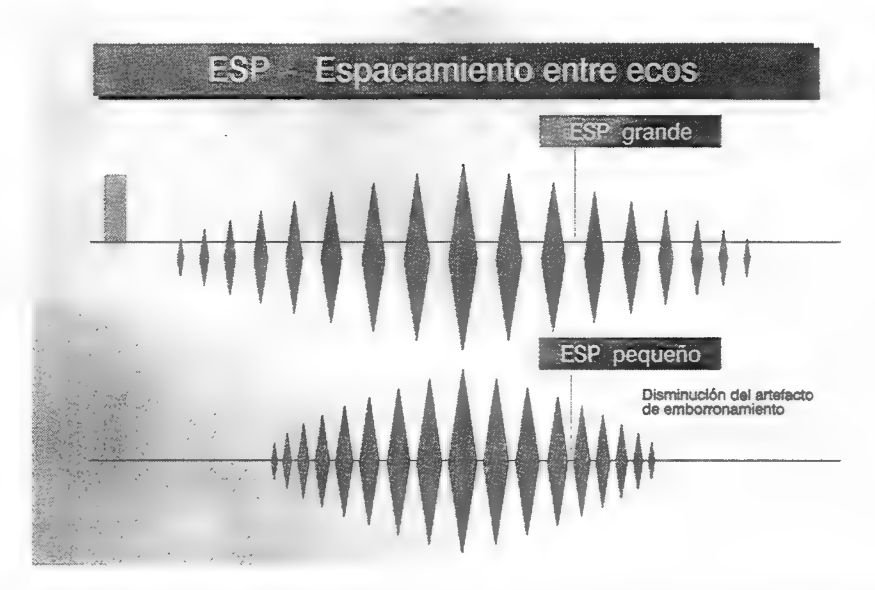


En este ejemplo, con una matriz de 28 líneas y un FT de 7, las 28 líneas del espacio K se rellenan en grupos de 7 y únicamente hay que realizar cuatro TRs.

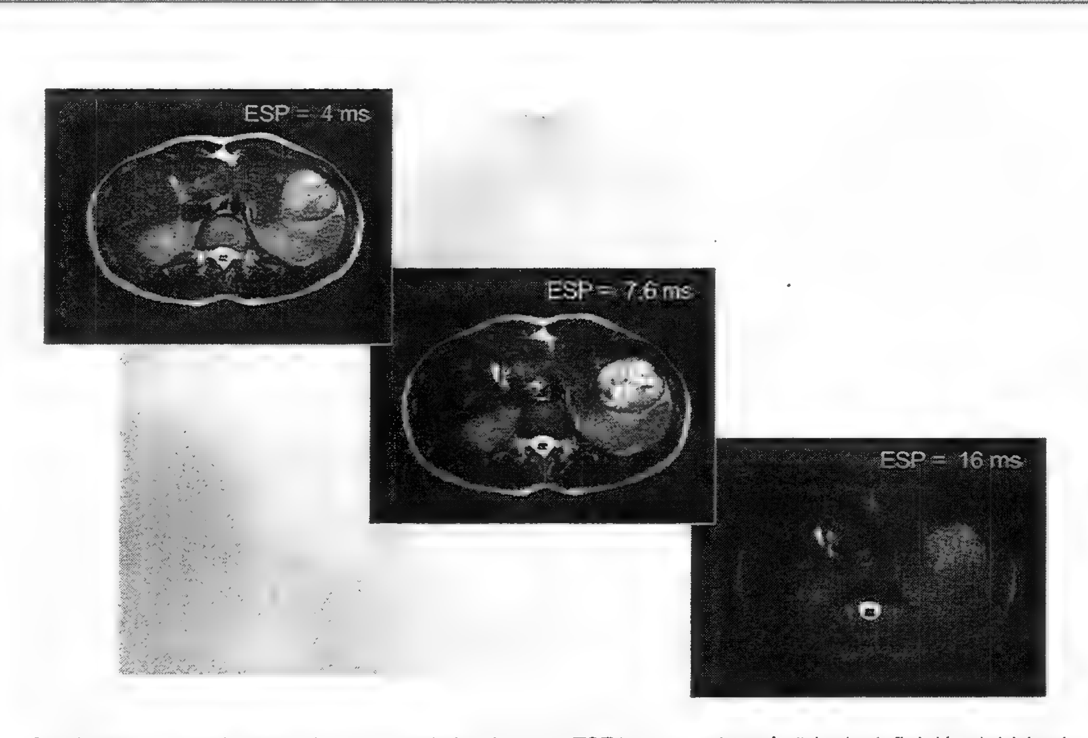
Esta modalidad de adquisición se denomina TSE segmentado o *multiple-shot* (disparo múltiple), pues son necesarios varios "disparos", TRs para rellenar totalmente el espacio K. Por ejemplo, con una matriz de 256 y un FT de 25 hacen falta 10 disparos para rellenar completamente la matriz.



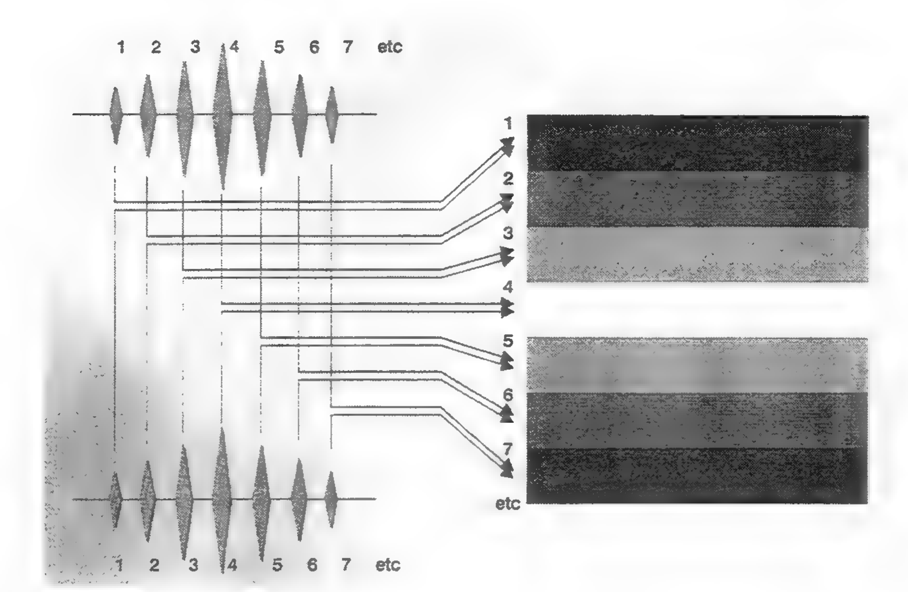
El TR es el tiempo que transcurre entre pulsos de excitación de RF sucesivos. El efecto del TR en TSE es similar al que tiene en SE, debiendo ser corto para una potenciación en T1 (400-600 ms) y largo para una potenciación en DP y T2 (1500-2000 ms). Un TR largo permite que la relajación longitudinal sea más completa, y se utiliza para obtener imágenes potenciadas en T2 o DP. Cuanto más largo es el TR menos influencia T1 tendrá la imagen. En TSE el TR puede alargarse hasta 8.000-10.000 ms dependiendo del número de ecos y número de cortes necesarios. Cuanto mayor es el FT y/o el número de cortes necesarios, mayor tiene que ser el TR. Un TR largo aumenta la capacidad multicorte, ya que al estar menos "ocupado" el ciclo, es posible la excitación de más cortes.



El espaciamiento entre ecos *(echo spacing)* o ESP es el tiempo transcurrido entre ecos contiguos. En principio, es igual para todo el tren de ecos. Como norma general y aunque depende de otros parámetros, el ESP debe ser lo más corto posible. Un ESP pequeño tiene los siguientes efectos favorables: a) el más llamativo es la disminución del artefacto de "emborronamiento", ya que disminuye el decaimiento T2 entre ecos y, como consecuencia, la pérdida de definición de bordes, b) mejora la SNR para los ecos lejanos, c) disminuyen los artefactos por movimiento porque se reducen los errores de fase inducidos por gradientes que se propagan durante el tiempo entre ecos, y d) aumenta la capacidad multicorte. El ESP normalmente puede variar entre 5-25 ms.

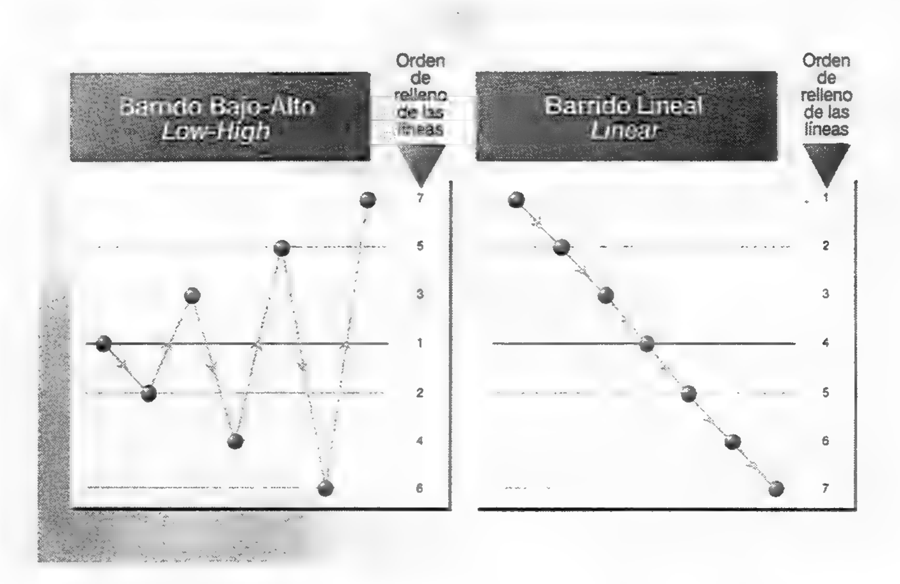


Obsérvese en esta imagen de un corte abdominal con TSE la progresiva pérdida de definición debida al artefacto de emborronamiento *(blurring)* y a la disminución de la S/R, cuanto mayor es el ESP.



El número de líneas que tienen el mismo tiempo de eco, o lo que es lo mismo, los ecos que ocupan la misma posición en cada tren de ecos se denomina SEGMENTO.

Cada rectángulo representa un segmento. En cada segmento están todos los ecos con el mismo TE, siempre con distinta codificación de fase. En el ejemplo se muestra un ETL de 7.



En TSE se aplican dos tipos de barrido del espacio K:

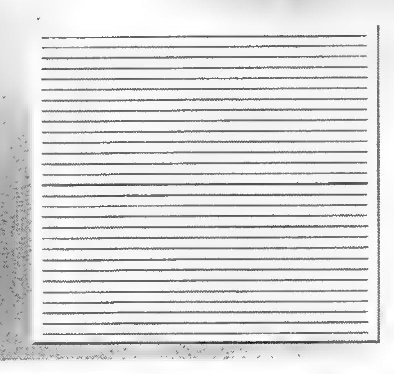
A) En primer lugar se rellena la línea central del espacio K, posteriormente se rellenan alternativamente las líneas 0, –1, +1, -2, +2, -3, +3, etc. Este barrido se denomina *low-high* (bajo-alto, refiriendose a las codificaciones de fase bajas o altas) o centro-extremos.

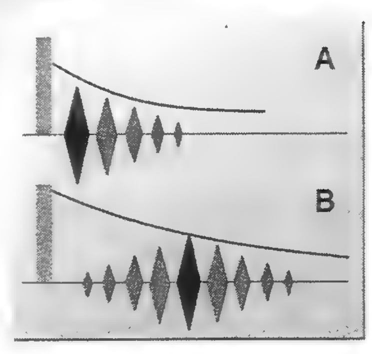
B) El barrido comienza por una línea extrema y acaba en la opuesta: 128, 127, 126, ...0,....-127, -128. Este barrido se denomina *linear.*

Contraste en secuencias TSE

TE efectivo (TEef)

Orden de lectura del espacio K, TR, FT

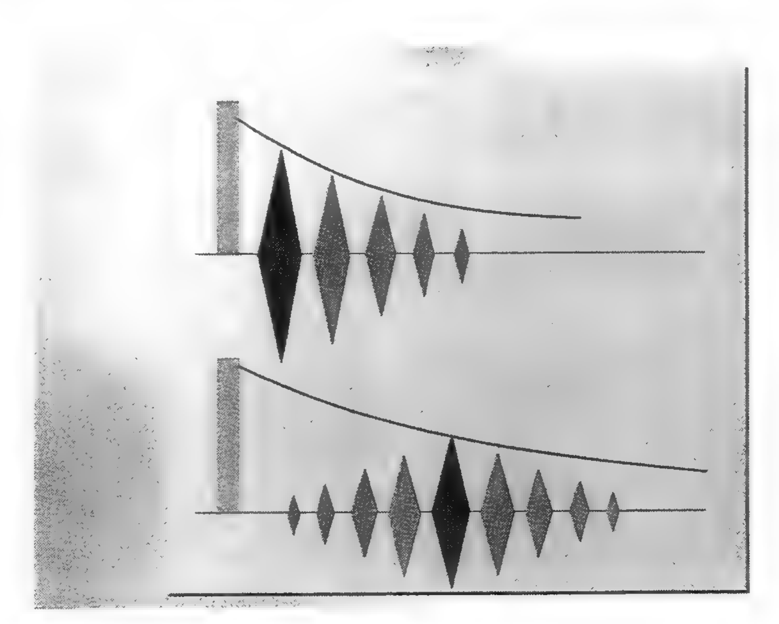




El tiempo de eco efectivo (TE_{ef}) es el tiempo transcurrido entre el pulso de excitación y el eco que se colocará en el segmento central del espacio K (eco en rojo). El TE_{ef} es el parámetro fundamental para controlar el contraste de la imagen (T1, T2 o DP).

Únicamente el segmento central contribuye al contraste y, dependiendo de su tiempo de lectura la imagen resultante se potencia en T1, T2 o DP. Por esto se denomina TE_{ef}, y no TE, ya que sólo un eco de cada tren condiciona el contraste.

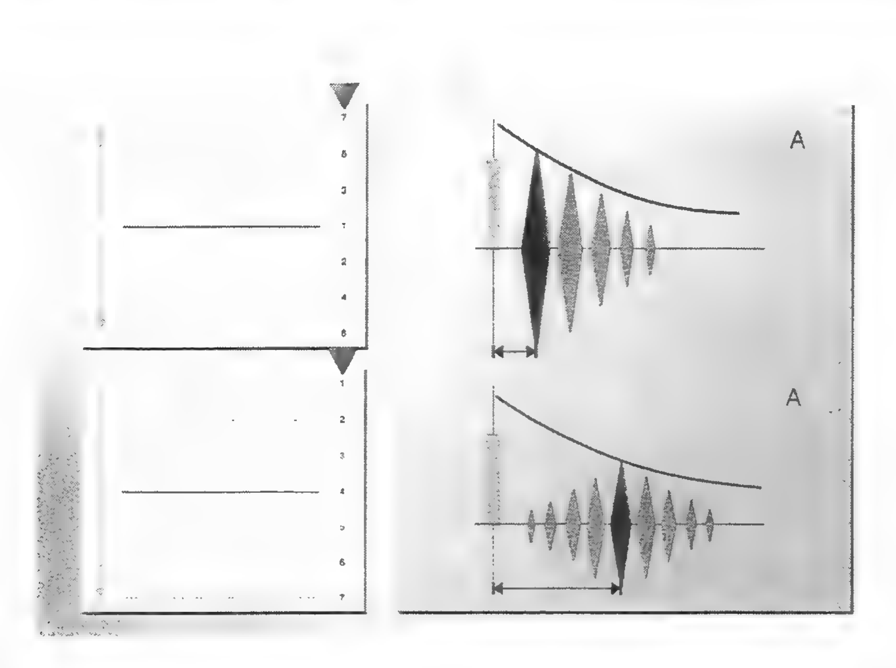
En la secuencia A el TE_{ef} es corto (imagen potenciada en T1) y en la secuencia B es largo (imagen potenciada en T2).



Es importante remarcar que, a efectos de contraste, la secuencia TSE puede considerarse una secuencia "monoeco". Únicamente son los ecos centrales del espacio K los que determinan el contraste de la imagen (T1 o T2). El resto de los ecos contribuyen al detalle y a la S/R.

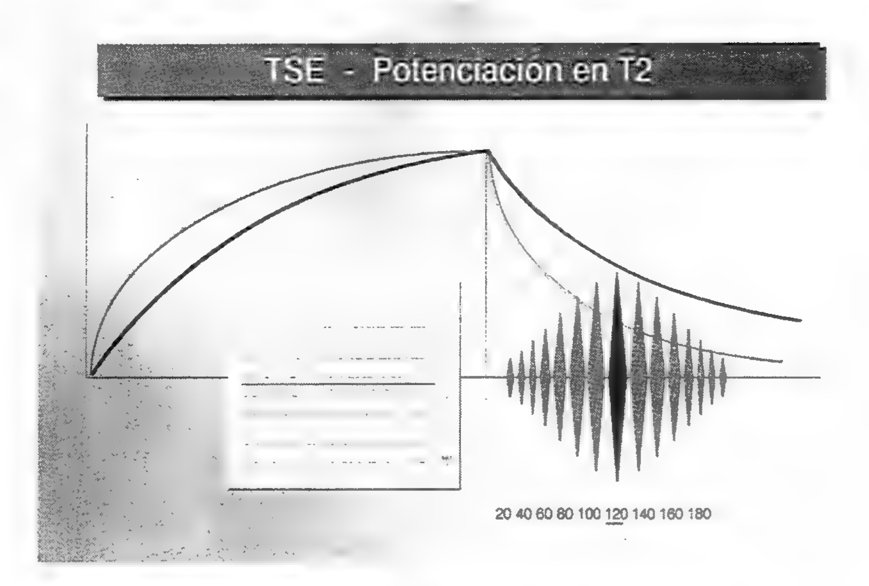
Obsérvese como la envolvente de decaimiento T2 está marcada por la FID (no mostrada en el dibujo) y pico del eco central.

El contraste en TSE es T2 y no T2*.



Para un TE_{ef} corto (A), distancia entre el pulso de excitación (en verde) y el eco central (en rojo) tiene que ser mínima, es necesario rellenar en primer lugar la línea central: se aplica un barrido del espacio K tipo *low-high* (bajo-alto) o centro-extremos. Para TE_{ef} largos (B) se aplica un barrido lineal. Esto permite que el eco central esté más alejado del pulso de excitación.

Parte VII
SEC. TURBO



En el dibujo se pueden ver de una manera gráfica los parámetros para una potenciación en T2. Con un TE_{ef} largo el eco central se desplaza hacia la zona donde las curvas de relajación T2 de dos tejidos muestran diferencias apreciables.

El tiempo de eco efectivo para potenciar la imagen en T2 suele ser algo más largo que en SE; del orden de 120-140 ms.

El relleno del espacio K es, en este caso, de tipo lineal.

En las secuencias TSE *multishot*, el FT habitualmente varía entre 8 y 35.

Parametros habituales en TSE T2

TR largo	< 2000 ms *No efecto T1*

Con TR muy largos (2000 - 80000)
- *Menos efecto T1*
- *Más cortes en un TR*

TE_{ef}	100 - 150 ms
Factor Turbo	8 - 35
Lectura del EK	Lineal

En el cuadro se resumen los parámetros habituales en TSE T2. El TR debe ser lo suficientemente largo para que los tejidos hayan recuperado su magnetización longitudinal en la mayor medida posible y no tener efecto T1. Adicionalmente cuanto mayor sea el TR mayor será el número de cortes que se pueden excitar (mayor capacidad multicorte).

El TE_{ef} debe estar entre 100 y 150 ms. El factor turbo varía entre 8 y 35, aunque este valor puede depender de las prestaciones del equipo, ya que cuanto menor pueda ser el ESP (se necesitan gradientes más potentes y rápidos), mayor puede ser el FT.

La lectura del espacio K es de tipo lineal.



Ejemplo de TSE T2. Corte axial de abdomen. TR= 2400, TE_{ef}=100. Se ha aplicado un porcentaje de escán del 11% (229x256), FT=10 (no reflejado en los parámetros que se imprimen con la imagen), y un número de repeticiones (NEX) = 6. Se han obtenido 22 cortes. El tiempo de exploración es de 5:50 min.

Utilizando SE (con el mismo TR) la adquisición hubiera durado ¡54 min!

Este es un ejemplo demostrativo de la principal utilidad de la secuencia TSE: la obtención de imágenes rápidas potenciadas en T2, sustituyendo, en general, a la secuencia SE.

Ahorro medio de tiempo con *Multi-Shot*

El ahorro de tiempo no es exactamente proporcional al FT

Ahorro medio de tiempo en la práctica

Factor 4 - 5

Para mantener la capacidad multicorte:

- *Aumentar el TR*
- *Aumentar el número de paquetes*

Menor señal que en SE. Para mantener la señal:

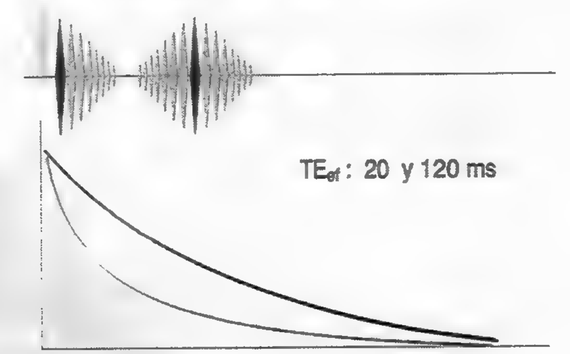
- *Aumentar el NEX*

En TSE T2 el ahorro de tiempo no es exactamente proporcional al FT. En general, con la técnica *multi-shot*, el tiempo de adquisición disminuye en un factor 4-5. Las razones son, en primer lugar que para mantener la capacidad multicorte es necesario aumentar el TR con respecto a SE (recordar que ahora el TR está ocupado por múltiples ecos) o bien aumentar el número de paquetes (cuando el número total de cortes caben en un TR, se divide la adquisición en dos paquetes, en uno se adquieren los cortes pares y en el otro los impares).

En segundo lugar, el número de repeticiones (NEX) suele ser mayor que en SE. Son habituales 4-6 NEX, mientras que en SE no se pasa de dos.

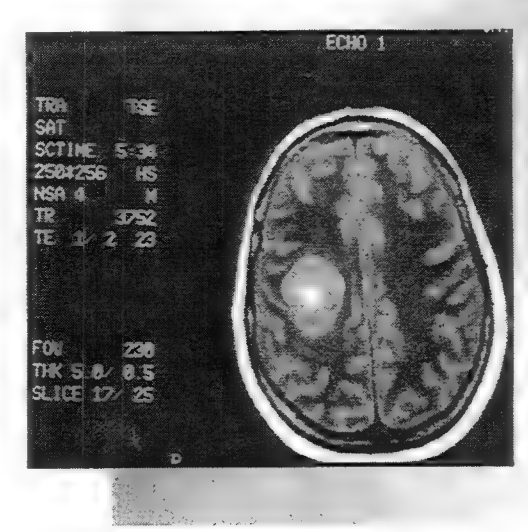
Dual Contrast - Adquisición de 2 trenes de ecos

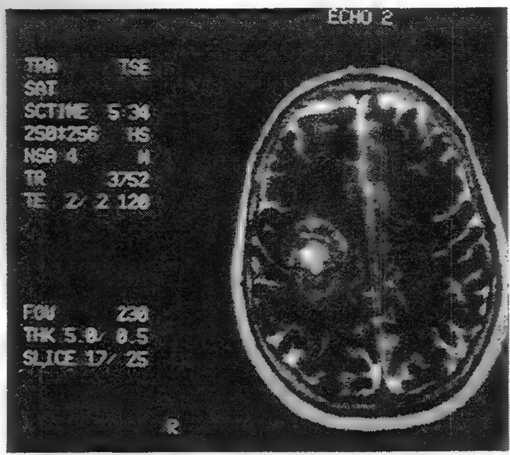
- **TE_{ef} corto** ► Imagen potenciada en DP
- **TE_{ef} largo** ► Para T2



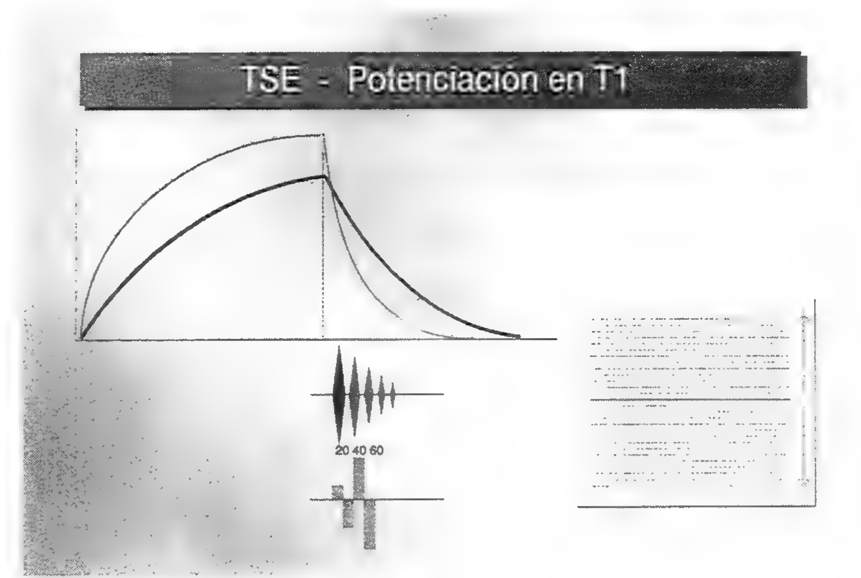
Es posible adquirir en un TR dos trenes de ecos, uno con un TE_{ef} corto para formar una imagen potenciada DP, y otro con un TE_{ef} largo para T2 *(Dual echo o dual contrast)*. Esto es equivalente a SE DP-T2, donde en el mismo TR se adquieren dos ecos para formar las dos imágenes.

El ahorro de tiempo es todavía menor con respecto a SE (aproximadamente por un factor 2), por la mayor ocupación del TR (dos trenes de ecos).





Ejemplo de adquisición TSE doble eco. Los parámetros quedan reflejados en la leyenda a la izquierda de las imágenes. La primera tiene un TEef de 23 ms, y la segunda de 120 ms. Obsérvese que el resto de los parámetros es igual en las dos imágenes.



En TSE, para una potenciación en T1 el TR tiene que ser corto, para marcar diferencias en la relajación T1 de los tejidos, y el TEef también corto para no tener efecto T2 (similar a SE). El relleno del espacio K es low-high (bajo-alto o centro-extremos), para que el eco central se adquiera lomás cerca posible del pulso de excitación.

El FT es pequeño, no sobrepasando los cuatro o cinco ecos, para “no invadir” terreno T2, y permitir TRs cortos. Además, a partir de FT=5 el artefacto por emborronamiento en imágenes T1 es muy severo.

Parámetros habituales en TSE T1

TR	corto *Diferencias T1*
TE_{ef}	15 ms
Factor Turbo	4 *No entrar en terreno T2*
Lectura del EK	*low-high*

En el cuadro se resumen los parámetros habituales para TSE T1, que han sido explicados en el esquema anterior.

Ahorro medio de tiempo con TSE T1

Factor turbo mucho menor que en TSE T2

Ahorro medio de tiempo en la práctica

Factor 1 - 2

Menor número de cortes por:

- *TR menor*
- *Mayor ocupación del TR*

Para igualar la señal:

- *Más NEX*

El ahorro de tiempo es todavía menor que en TSE T2 o en TSE dual-eco. Las razones son la necesidad de FT pequeño, un TR menor que condiciona un menor número de cortes (menor capacidad multicorte) y la necesidad ya reseñada anteriormente de efectuar más NEX.

TSE T1 tiene utilidad y puede sustituir a SE, cuando el número de cortes necesarios es pequeño.

TSE T1

FOV:	375 mm
Grosor:	6 mm
Tiempo:	0:27 min



Los modernos equipos permiten tiempos de exploración de menos de 1 minuto, si bien en este caso, el número de cortes suele ser limitado.

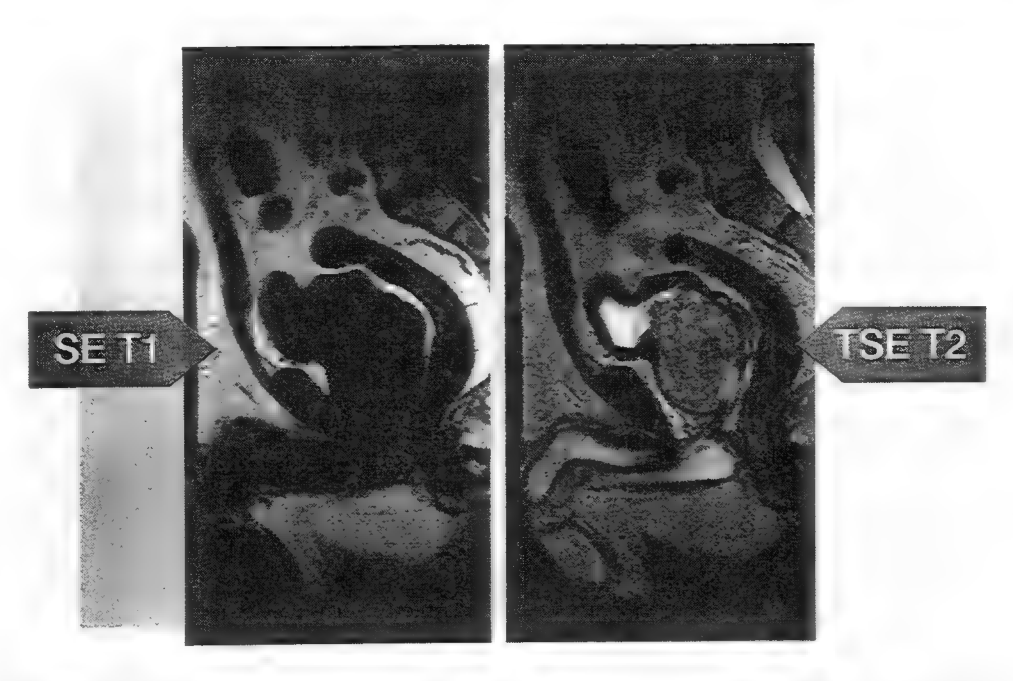


TSE T1

TF:	4
% scan:	191x256
NEX:	3
TR:	630
TE:	12
FOV:	350
THK:	8
Slice:	9/19
T:	2:19

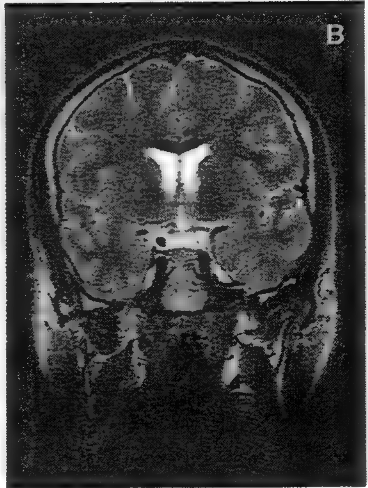
Corte sagital de la región pélvica, donde se puede observar un tumor (flecha). A la derecha se muestran los parámetros de la secuencia. Observe el lector el discreto artefacto por emborronamiento (mala definición de los bordes de las estructuras).





Es habitual en las exploraciones de cuerpo, la obtención de las imágenes T1 con SE y T2 con TSE como muestran las figuras. Obsérvese el gran tumor prostático.





Otra de las aplicaciones de la secuencia TSE es la obtención de imágenes de alta resolución utilizando matrices de 512 ó 1024. En estos casos, utilizando trenes de ecos más largos se compensa parcialmente el aumento de tiempo que conlleva el adquirir más líneas del espacio K. Se consiguen así tiempos de exploración clínicamente razonables.

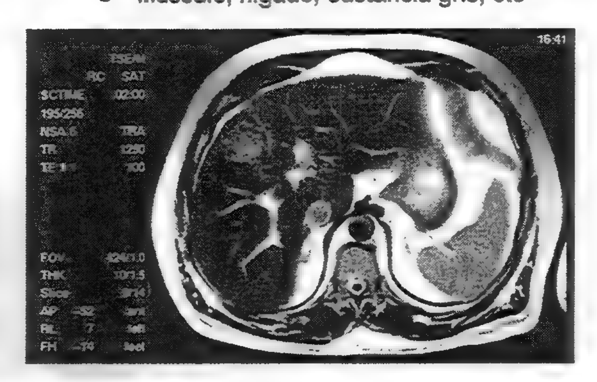
(A) Corte abdominal con matriz de 512 (obsérvese un pseudoquiste en la cabeza del páncreas).

(B) Corte coronal del cráneo con matriz de 1024.

Diferencias en el contraste con respecto a la secuencia tradicional - I

Distinción de la señal de algunos tejidos:

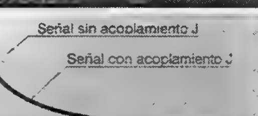
- **Músculo, hígado, Sustancia gris, etc**



La aplicación de múltiples pulsos de refase de 180º, que actúan como pulsos fuera de resonancia, aumenta el efecto de transferencia de la magnetización (MTC) en la secuencia TSE (este efecto se tratará posteriormente). La consecuencia sobre las imágenes TSE es una disminución de la señal de algunos tejidos ricos en proteínas, como por ejemplo la sustancia blanca, sustancia gris, músculo, hígado y el cartílago con respecto al líquido sinovial. En el cerebro, la señal absoluta del tejido disminuye en un 25-30% con técnica multicorte y algo menos con técnica de corte único. La grasa y los líquidos, como el LCR, no pierden señal y se muestran con una intensidad mayor respecto al resto de las estructuras.
Obsérvese en la figura la baja señal del hígado y de las estructuras musculares.

Diferencias en el contraste con respecto a la secuencia tradicional - II

Alta intensidad de la señal de la grasa en TSE T2







Una de las diferencias más llamativas entre SE y TSE es la hiperintensidad de la grasa en las imágenes potenciadas en T2, similar a la señal en una imagen SE T1. Parece que la causa más importante es el fenómeno denominado acoplamiento espín-espín, acoplamiento J o J-coupling. El acoplamiento de espín es el fenómeno por el cual la frecuencia de resonancia de un núcleo en un entorno químico dado se ve alterada por otros núcleos magnéticos próximos. En la grasa este fenómeno se produce en las cadenas de triglicéridos (núcleos de hidrógeno de los ácidos grasos de cadena larga). El resultado es que no todos los núcleos se desfasan rápidamente. Este efecto se ve mitigado en las secuencias que utilizan un tren de ecos largo y la grasa se desfasa más lentamente.

Diferencias en el contraste con respecto a la secuencia tradicional - I

Barrido Bajo-Alto
Low-High



Realce de bordes

Barrido Lineal
Linear



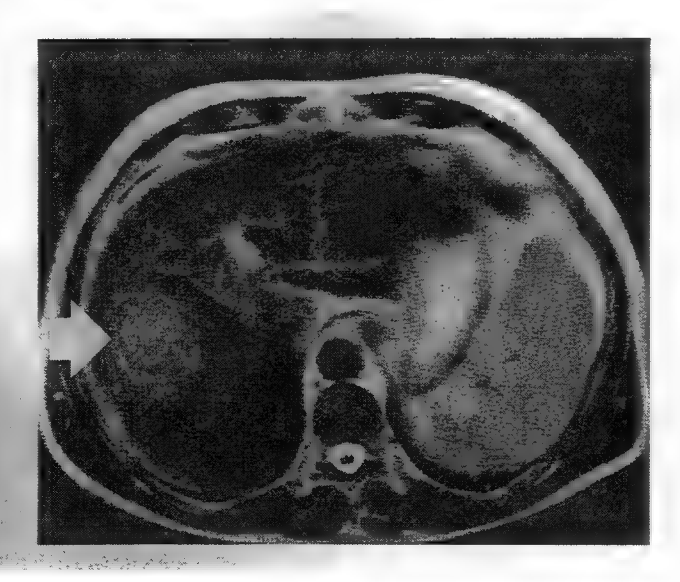
Emborronamiento

Dependiendo del tipo de barrido del espacio K pueden aparecer dos tipos de artefactos:

a) En el barrido centro-extremos las imágenes pueden mostrar un realce artificioso de los bordes.

b) En el barrido lineal sucede lo contrario: los bordes pueden estar emborronados debido a la debilidad de los ecos lejanos por el decaimiento T2.

Parte VII.
SEC. TURBO

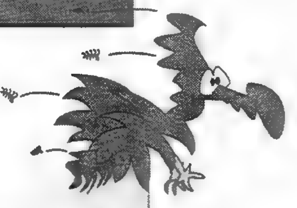


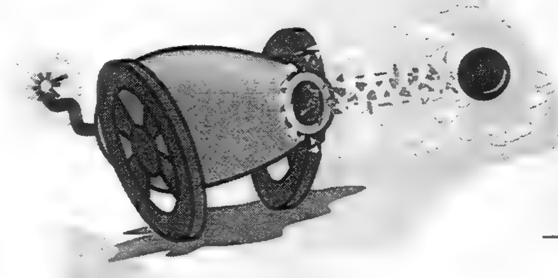
Una característica de TSE es, por ejemplo en el caso de lesiones sólidas (tumores), un menor contraste entre el órgano y la lesión que en SE. Sin embargo, las lesiones quísticas y cierto tipo de tumores, como los angiomas, con un T2 largo se demuestran claramente e incluso se pueden caracterizar por su alta intensidad de señal.

Obsérvese en la imagen TSE T2 el escaso contraste entre el tumor sólido hepático (flecha) y el parénquima.

109

SINGLE SHOT en secuencias TSE





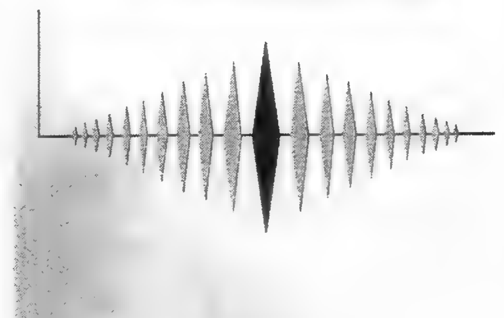
Lectura de todo el espacio K tras un único pulso de excitación con 256 - 512 ecos

En la secuencia TSE es posible la recogida de todos los ecos, y por lo tanto el relleno de todo el espacio K en un solo TR. Esto se denomina TSE *single-shot*.

Esto es posible gracias a los recientes avances en *hardware*, que permiten ESP muy cortos (menores de 5 ms). Con esta técnica, el tiempo de adquisición puede ser menor de un segundo por corte.

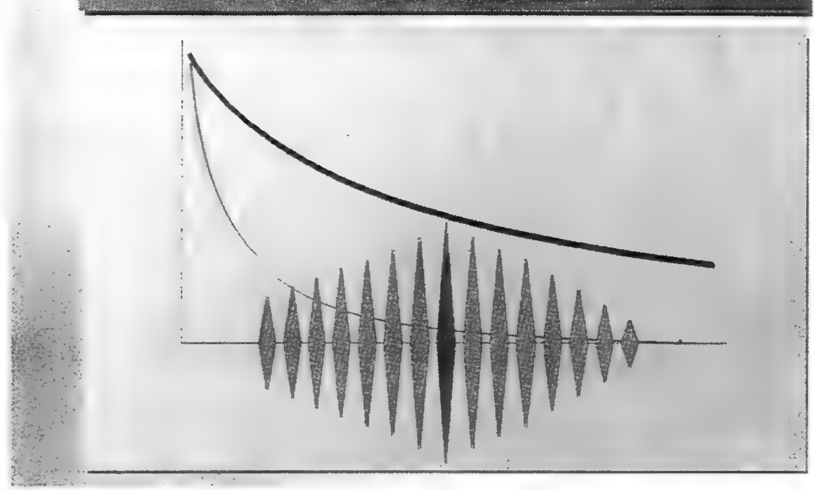
2000 ms (TR) x 1 x 1 NEX

¡1 - 2 s !



El dibujo muestra un tren de ecos largo (256-512) que permite el relleno de todo el espacio. El barrido es de tipo lineal. El TR es infinito ya que existe un único pulso de excitación.

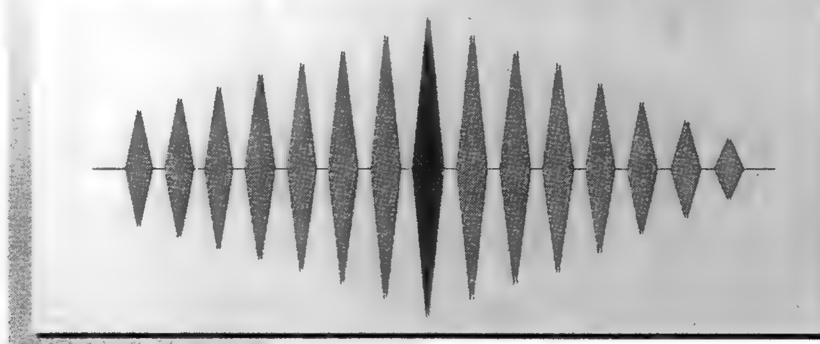
SINGLE SHOT en secuencias TSE



Obsérvese como en SS TSE la potenciación en T2 es muy fuerte debido a que el TE_{ef} siempre es necesariamente largo. El tren de ecos largo ocupa gran parte del TR y el eco central está lejos del pulso de excitación. La aplicación clínica principal de esta secuencia es la demostración de estructuras con un T2 muy largo, como los líquidos (colangiografía, colangiopancreatografía, urografía, etc.)

Borrosidad en SS TSE

Gran diferencia de intensidad de los ecos iniciales y los ecos finales



El principal inconveniente de esta secuencia es la borrosidad de estructuras con un T2 intermedio o corto, por la baja intensidad de señal de los ecos distales, en los que el decaimiento T2 es muy marcado.

Cuanto mayor es el tren de ecos, mayor es este artefacto, puesto que los ecos distales están muy alejados del pulso de excitación y tiene muy poca intensidad.

Por ejemplo, con un FT=21, TE_{ef}=125, el último eco del tren tiene un tiempo de eco de 250 ms y prácticamente, sólo dan señal los líquidos.

SS TSE

TR:	4500
TE:	940
NEX:	1
Matriz:	512

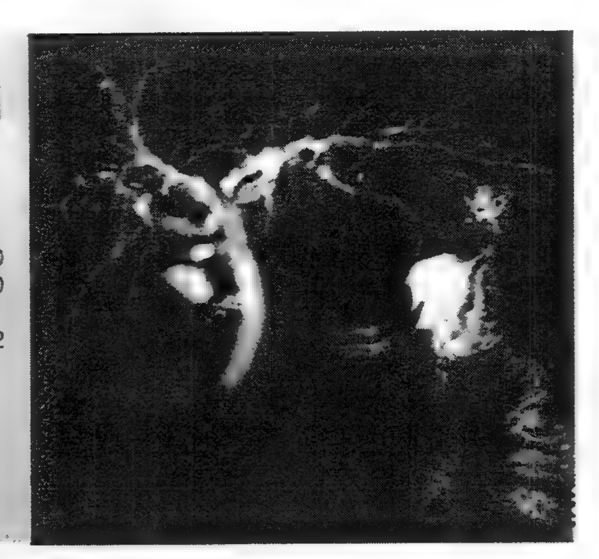


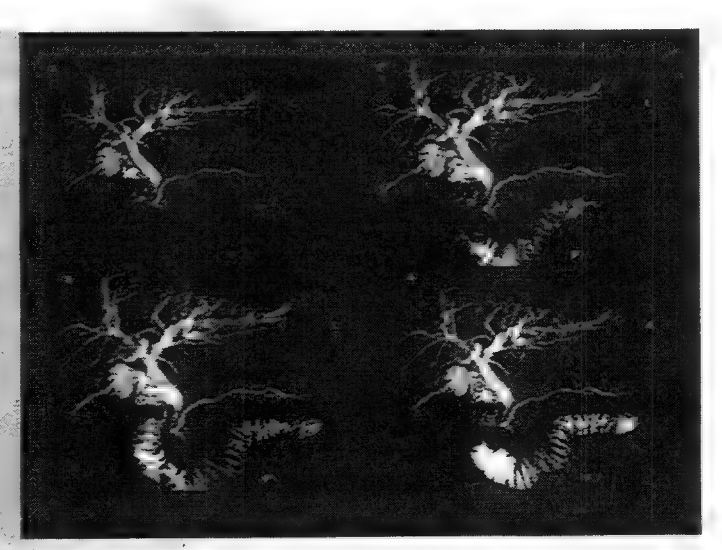
Imagen SS TSE. Esta técnica se utiliza, por ejemplo, para colangiografía RM, en la que los fluidos (T2 largo) muestran una alta señal, mientras que el resto de las estructuras (que tienen tiempos de relajación T2 mucho más cortos, normalmente entre 70 –100 ms), apenas son visibles. Los parámetros fundamentales se muestran a la izquierda de la imagen.

La dilatación del colédoco finaliza con una morfología en "patas de cangrejo" por un cálculo obstructivo *(cortesía de Siemens)*.

SS TSE

Coledocopancreatografía
21 Dynamic Scans

TF:	256
FOV:	270 mm
TR:	4000
TE:	1300
SL.TH:	65
SPIR:	
Total Sc. Time:	1:24



Coledocopancreatografía con SS TSE. Los parámetros fundamentales se muestran, como en la figura anterior, a la izquierda de la imagen. Adicionalmente se ha aplicado una presaturación de la grasa.

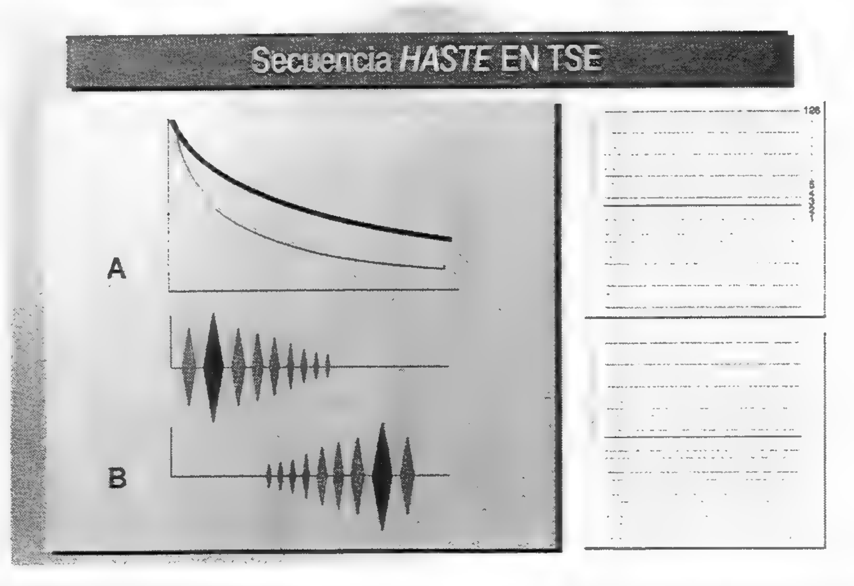
Con la técnica SS TSE se suelen obtener cortes de grosor variable (cortes de 20 y 80 mm), con lo que el sistema biliopancreático puede visualizarse mediante una sola adquisición en 3-4 s y sin necesidad de posprocesamiento posterior. En este caso el grosor de corte es de 65 mm.

Simetría del espacio K en TSE



Recientemente, y con la intención de acortar aun más el tiempo de exploración, se ha desarrollado una variedad de TSE, denominada HASTE *(Half-Fourier acquisition single-shot turbo spin-echo)*, que combina la modalidad *single-shot* TSE con HF. Esta secuencia, que aprovecha la simetría hermitiana del espacio K, consiste en la adquisición TSE de un porcentaje del espacio K, generalmente un 60%, con una matriz de 256x256 (adicionalmente suele aplicarse un % de scan de un 30-40%, adquiriendose un 60% de 256). Esto significa que todo el espacio K se rellena tras un único pulso de excitación *(single-shot)*. Debido a la combinación de TSE, HF y single-shot, los tiempos de exploración son muy cortos, del orden de 1-4 s, permitiendo exploraciones con respiración mantenida *(breath-hold)*.

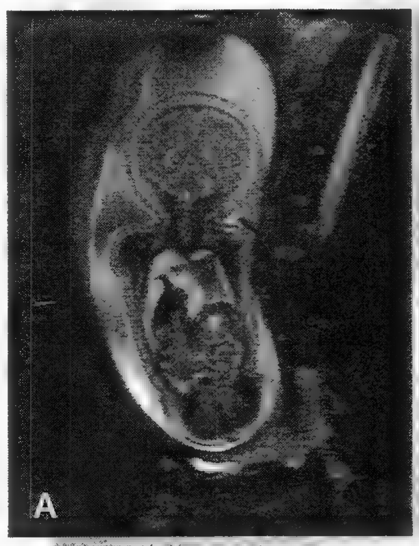
Secuencia *HASTE* EN TSE



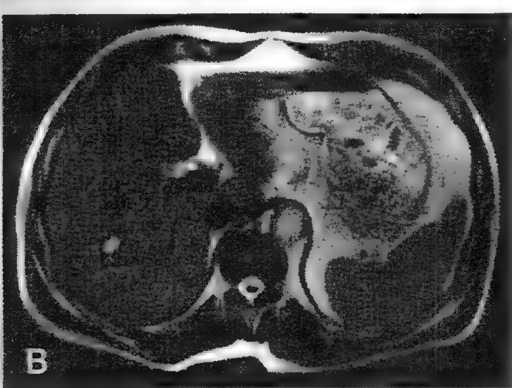
En esta secuencia es posible aplicar TE_{ef} mucho más cortos que en SS TSE, debido a que el relleno del espacio K se puede comenzar por las líneas mas cercanas al centro, según muestra el dibujo de la secuencia (A) y de dicho espacio (no hay ecos delante que "estorben"). Con este tipo de adquisición el TE_{ef} puede estar por debajo de los 100 ms, con lo que es posible representar estructuras con un T2 corto.

Con *HASTE* se pueden adquirir imágenes en 1 s y las aplicaciones principales son las exploraciones del abdomen, pacientes pediátricos, pacientes no cooperadores, embarazo.

Para estudios de líquidos, cuando se aplica un TE_{ef} largo, el relleno del espacio K comienza por los ecos extremos y finaliza en la zona central del espacio K (B).



Half Scan Single-Shot Turbo Spin Echo (Philips)



Ejemplos de *HASTE*.

En A la secuencia *HASTE* se ha utilizado para el estudio de un feto. El TE_{ef} es de 100 ms y se ha añadido técnica de supresión grasa.

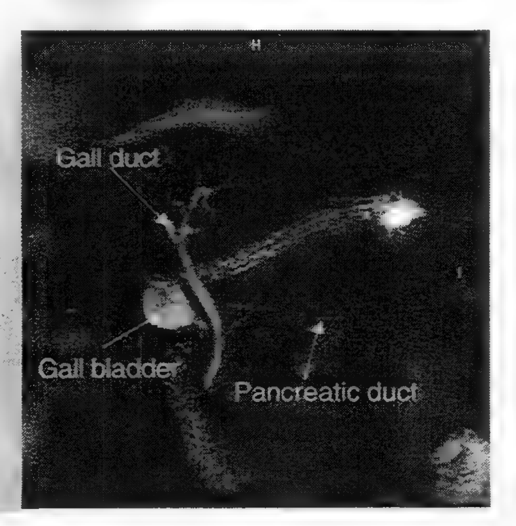
En B la secuencia *HASTE* tiene unos parámetros similares, pero sin supresión grasa. El tiempo de adquisición es de 1 s por corte.



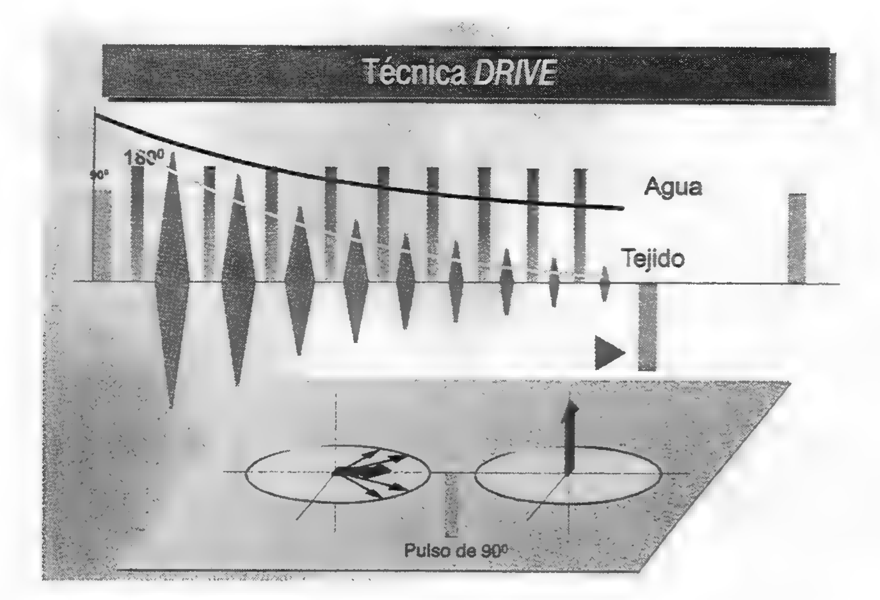
Colangiografía

TR:	1200
TE:	90
AC:	1
FOV:	300
Matrix:	256

MIP reconstruction

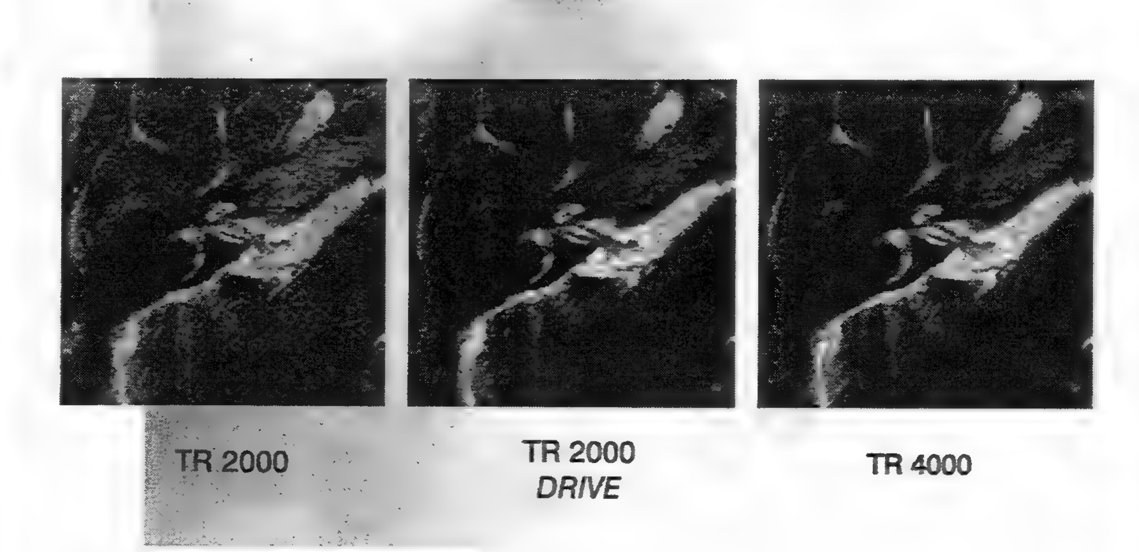


La secuencia *HASTE* para la demostración de estructuras líquidas, puede adquirirse en la modalidad de 3D con particiones de 4-5 mm. Posteriormente se representa con la modalidad de MIP *(cortesía de Siemens)*.

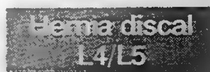


DRIVE es una técnica novedosa que permite la adquisición de TSE en 3D con tiempos de adquisición menores. Consiste en la aplicación de un pulso de 90º al final del tren de ecos que aprovecha la magnetización transversal residual para aumentar la magnetización longitudinal y al inicio del siguiente ciclo aumenta la del vector de magnetización longitudinal de algunos tejidos (T2 largo).

Se utiliza preferentemente en TSE 3D y permite acortar el TR (de nuevo, ahorro de tiempo) manteniendo una buena S/R.



En este estudio del CAI, efectuado con 3D TSE cuando se utiliza un TR de 2000 existe una cierta degradación del contraste y S/R. Utilizando la técnica *DRIVE* la señal y el contraste es similar a utilizar un TR de 4000.



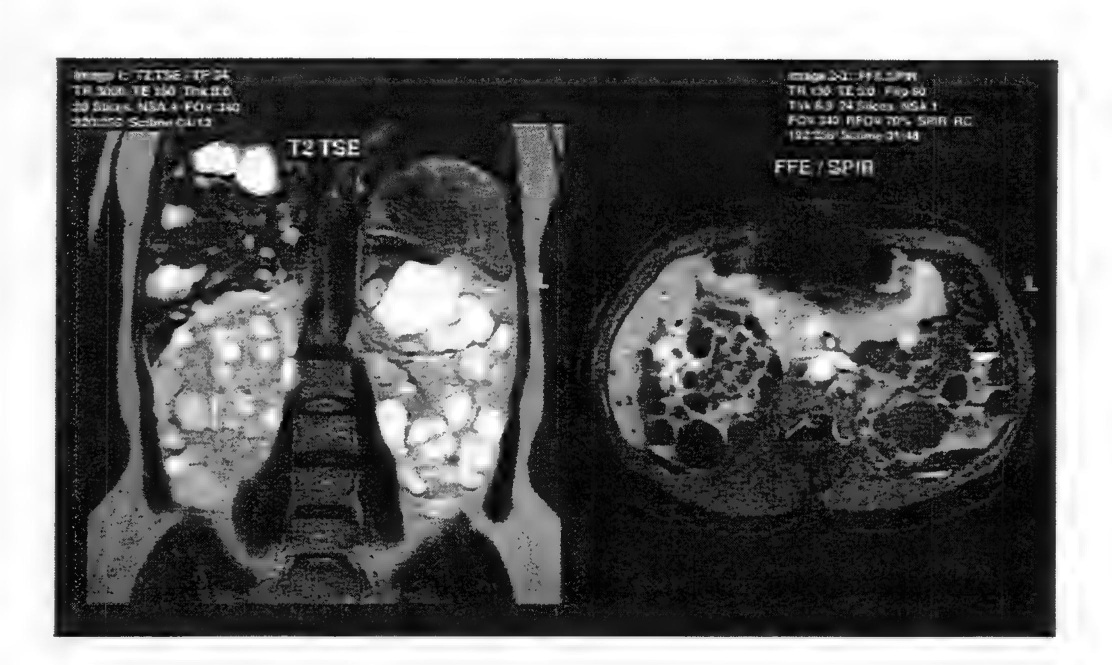
T1 TSE
4 mm
12 cortes
T. 2:22

T2 TSE / SPIR
4 mm
12 cortes
T. 2:22





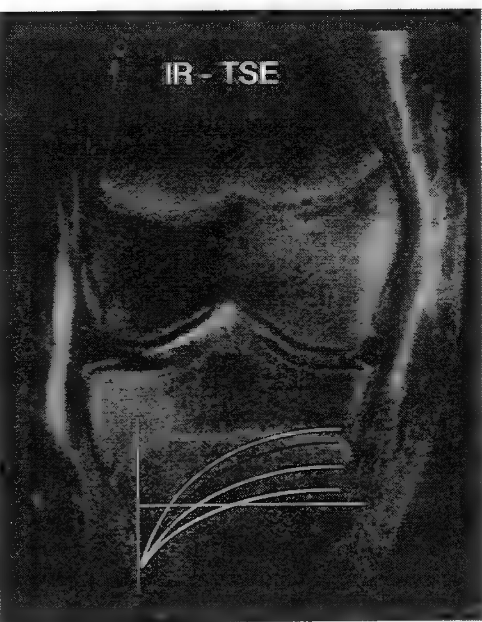
Es frecuente la utilización de técnicas de supresión grasa en la secuencia TSE. En este ejemplo de hernia discal (flecha), se puede observar como en la imagen de la derecha (T2), con supresión grasa añadida, el contraste y la señal relativa del LCR son mayores.



Ejemplo de TSE con un TE_{ef} relativamente largo (150 ms). Se demuestran claramente los quistes en esta poliquistosis hepatorenal. A la derecha, una imagen axial del mismo paciente, con FFE T1 y supresión grasa.





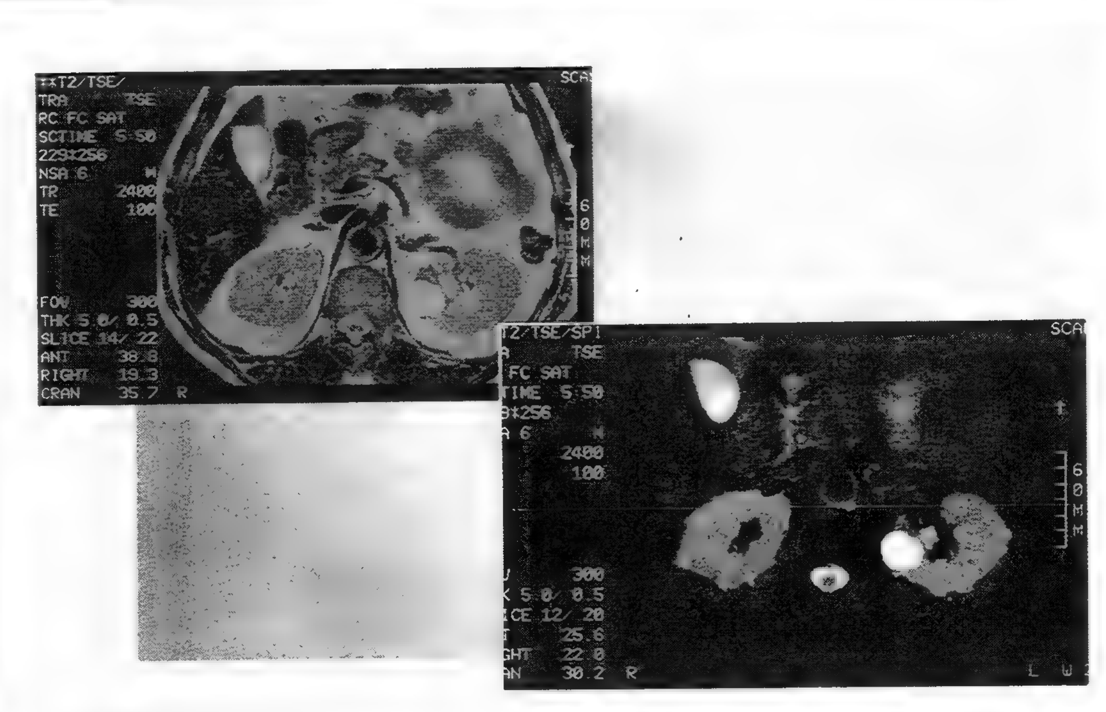


Cortes coronales de la rodilla en paciente con traumatismo.

A la izquierda, imagen de eco de gradiente.

A la derecha, imagen inversión recuperación TSE con un TI corto para anular la señal de la grasa. Obsérvese como el edema medular es más manifiesto en esta imagen.

TSE se puede combinar con pulsos de preparación de la magnetización.

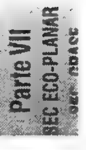


Corte abdominal con TSE.

A la derecha se puede observar el mismo corte con satruración espectral de la grasa.

Parte VII - 5

Secuencia Eco-Planar
Secuencia GraSE



Secuencia Eco Planar
Echo-Planar Imaging (EPI)

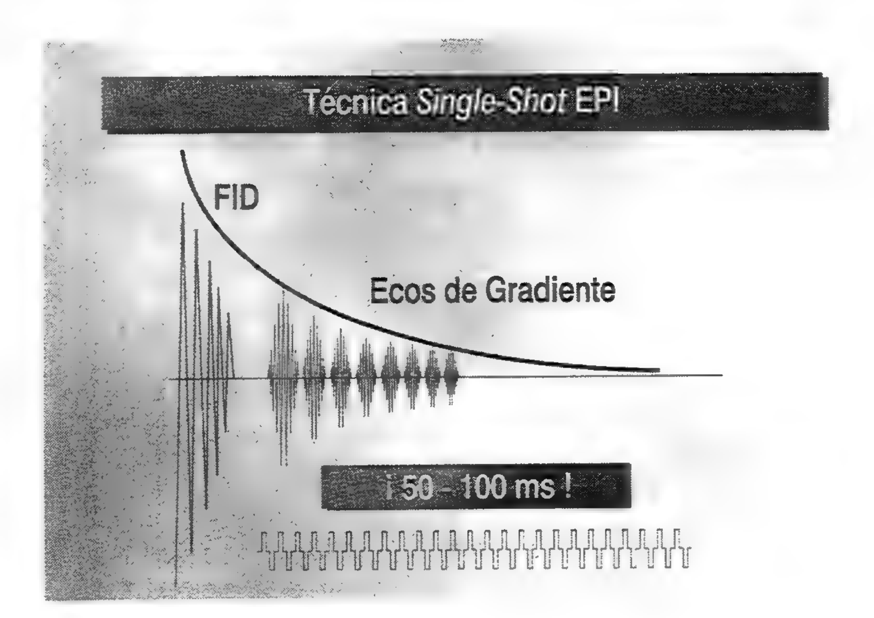
Técnica de Imagen Rápida

Mansfield, 1977

- Tiempo de adquisición: 0,1 seg. o menos
- Estudios completos: 20 seg.

Es la secuencia más rápida con aplicaciones clínicas actuales

La secuencia EPI fue originalmente descrita por Mansfield en 1977 y sorprendentemente, es la secuencia de resonancia más antigua. Sin embargo, los requerimientos técnicos tanto de *software* como de *hardware*, no han permitido hasta hace pocos años su utilización clínica.



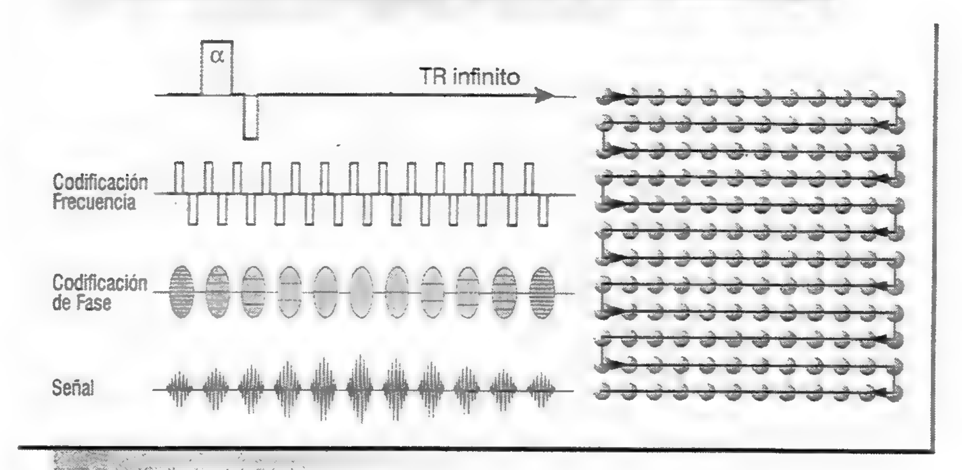
La secuencia EPI en su forma clásica se basa en el eco de gradiente. Tras un único pulso de excitación α, con la técnica de gradiente se adquieren múltiples ecos muy rápidamente. Con estos ecos se rellena todo el espacio K (cada eco se codifica con una fase distinta).

Esta es la técnica *Single-shot EPI*. Por lo tanto, la rapidez de la secuencia se basa en la lectura completa del espacio K tras un único pulso de excitación, junto con la técnica de ecos por gradientes.

Todos los ecos se recogen en un periodo de tiempo muy corto, comprendido entre 50 – 100ms.



Esquema temporal de EPI en *Single-Shot*



Obsérvese en este esquema temporal clásico de EPI en la modalidad de disparo único, el gradiente oscilante rápido de codificación de frecuencia y el trayecto del barrido del espacio K.

Cada eco tiene una codificación de fase. En este caso el barrido del espacio K es de tipo lineal.

En la modalidad SS se obtienen imágenes de baja resolución con matrices 128x128.

Características de la imagen EPI

Inconvenientes fundamentales

Alta sensibilidad a susceptibilidad magnética:

▶ **Interfases aire-hueso-partes blandas**

Desplazamiento químico muy marcad:

▶ **Supresión grasa sistemática**

La secuencia SS EPI tiene dos inconvenientes fundamentales:

a). Una alta sensibilidad a los efectos de susceptibilidad magnética, ya que son imágenes fuertemente potenciadas en T2*; por ejemplo, en la región facial o en la fosa posterior aparecen zonas de distorsión de la imagen e incluso pérdida de señal.

b). Un desplazamiento químico muy marcado. La grasa tiene una diferencia de precesión con el agua de 225 Hz en un campo magnético de 1,5 T. Con un tiempo de muestreo de 75 ms, supone un desplazamiento químico de 17 píxeles. Este desplazamiento químico tan acentuado obliga a anular su señal, de manera sistemática, con prepulsos de saturación.

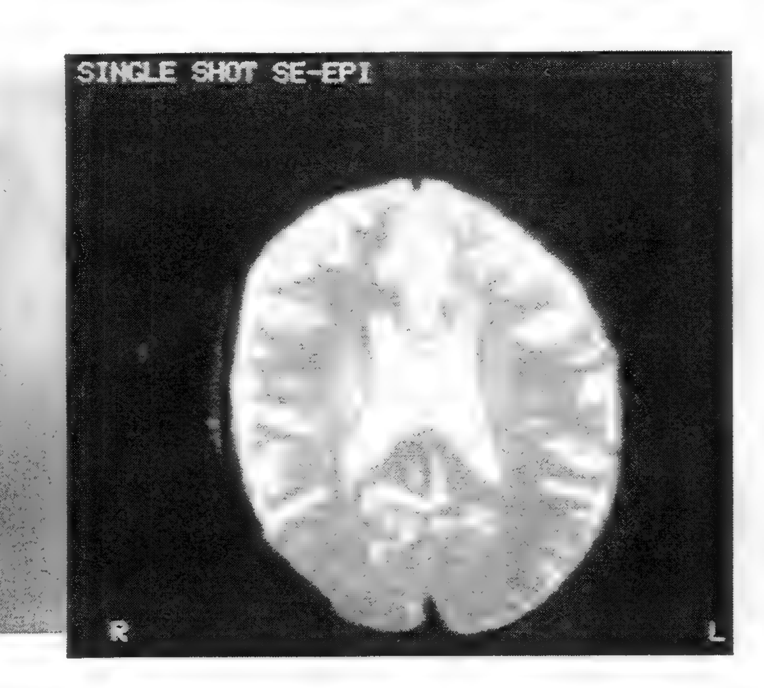
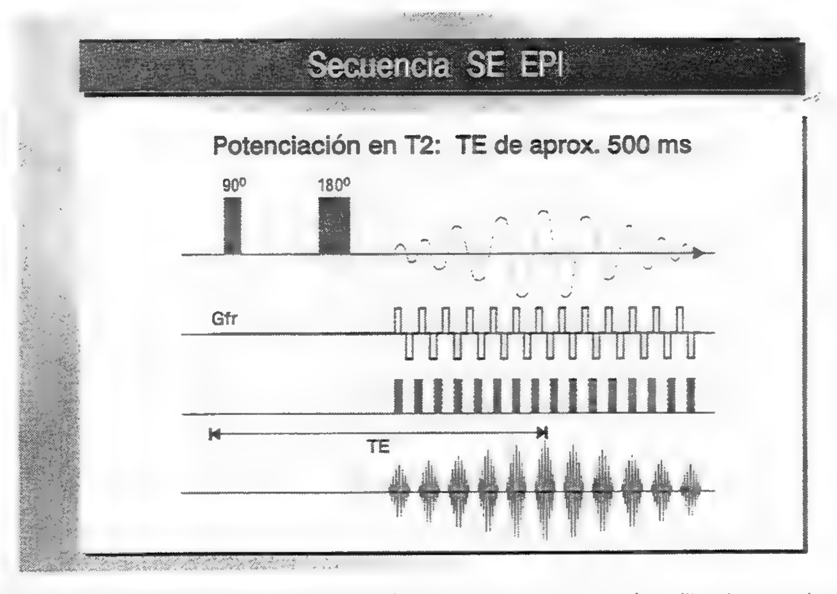


Imagen SS EPI T2. Obsérvese la baja resolución. La señal de la grasa ha sido anulada mediante técnica de saturación



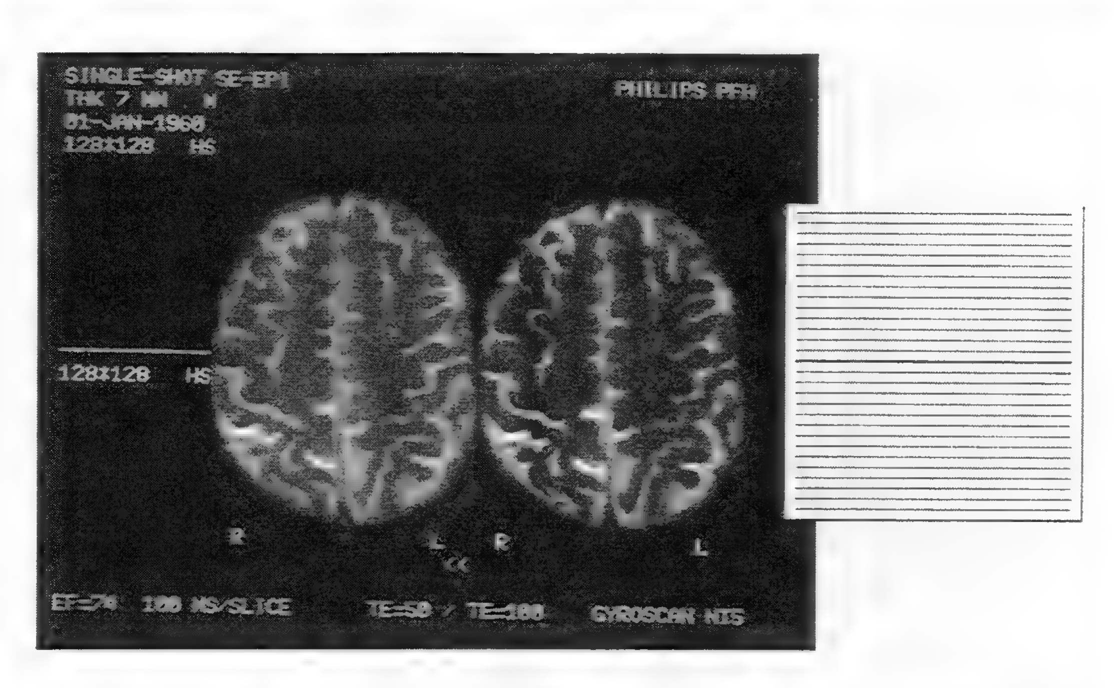
La secuencia EPI a partir de un eco de espín es actualmente la más utilizada para la aplicaciones clínicas, desde el estudio de músculo-esquelético y abdomen hasta los estudios de difusión cerebral.

Los ecos de gradiente se forman a partir de un eco de espín, como muestra el esquema.

Gfr = gradiente oscilante rápido de codificación de frecuencia o gradiente de lectura.

En este caso el esquema temporal corresponde a una potenciación en T2, con un TE largo, de aproximadamente 500ms y un barrido lineal del espacio K.

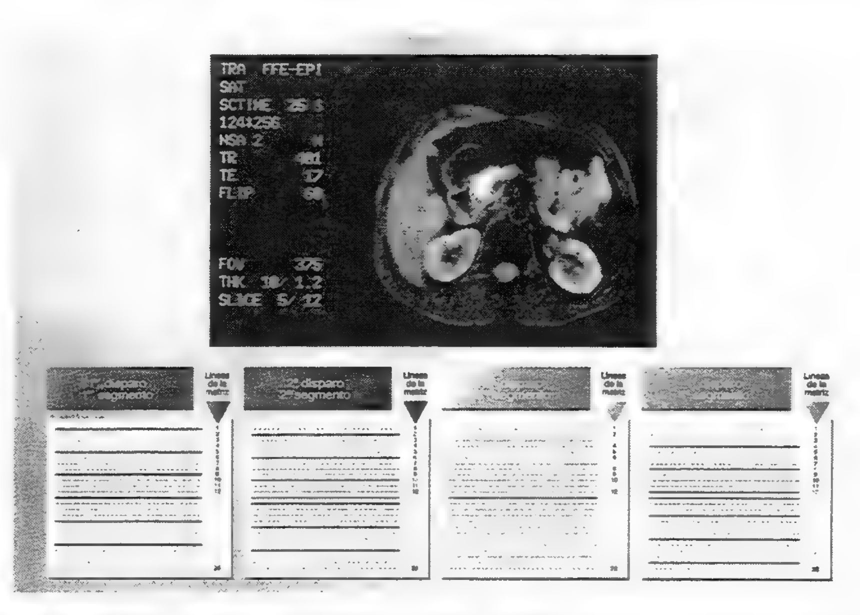
Como en la modalidad SS el TR es infinito, no existe efecto T1. Para potenciar en T1 es preciso aplicar técnicas de preparación del contraste.



La técnica de *Half Fourier* se puede aplicar a SS EPI, bien para acortar el tiempo de muestreo sin modificar la resolución, o bien para aumentar la resolución sin modificar el tiempo de muestreo.

En la figura se muestra un ejemplo de SS SE-EPI con HF. La matriz es de 128x128. En cualquiera de las modalidades de EPI, el número de ecos es el factor EPI *(EPI factor o EF)*. En este ejemplo el factor EPI es de 74. Se han adquirido dos imágenes, una con un TE de 50 ms y otra con un TE de 100 ms.

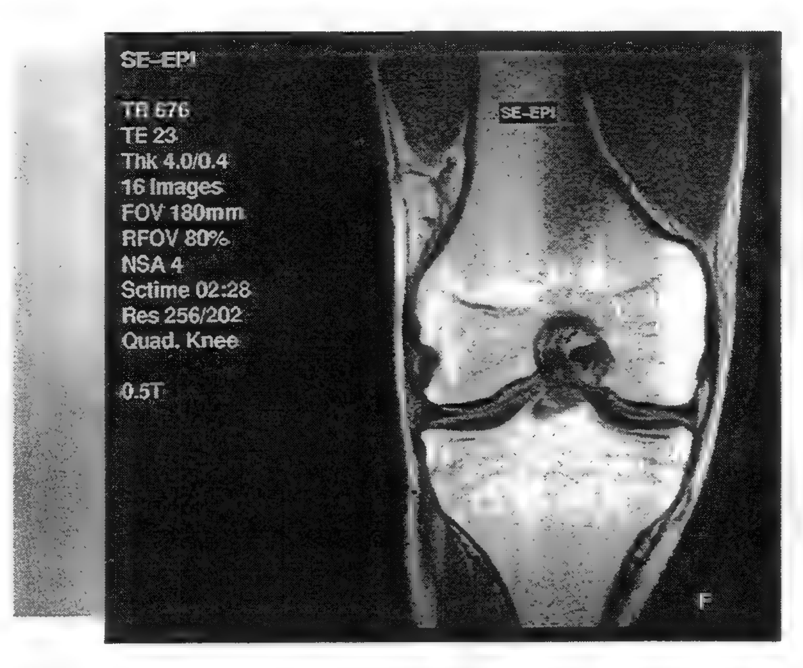
Con esta técnica la resolución es baja, y se utiliza para descartar patología grosera.



De manera análoga a lo que se puede hacer con TFE o TSE, en EPI es posible adqurir los datos en forma segmentada *(multi-shot)*; el espacio K se divide en segmentos (ver TSE). La aplicación de múltiples pulsos de excitación con un factor EPI menor mejora la señal y permite utilizar matrices mayores, aunque a costa de un tiempo de exploración más largo.

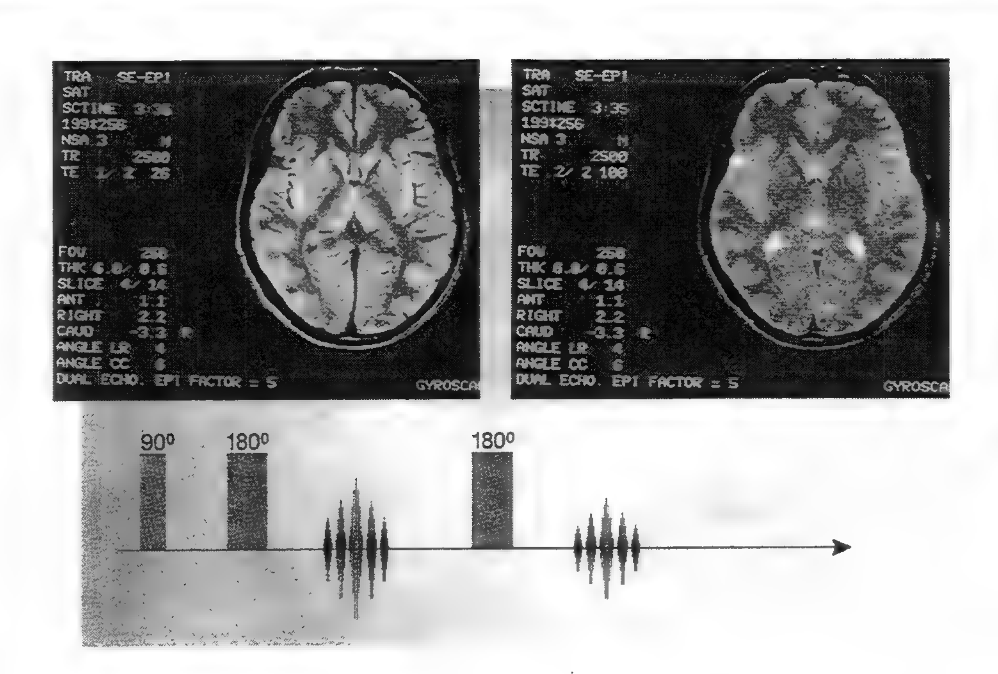
Se muestra un corte abdominal con FFE-EPI segmentado. Se ha utilizado un porcentaje de escán del 50% (124x256), 2 adquisiciones, un TR de 482 ms, un TE de 17 ms y un α de 60º. La señal de la grasa ha sido saturada antes de comenzar la secuencia de adquisición. La adquisición segmentada aumenta el tiempo a 22 s.





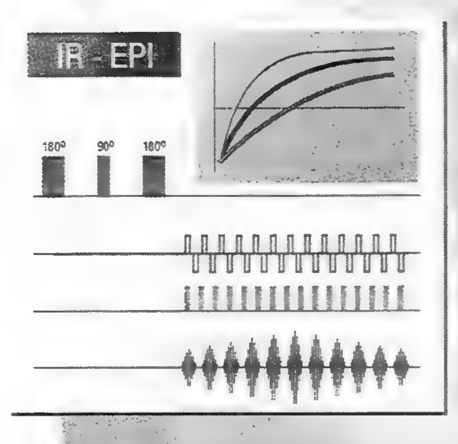
Corte coronal de la rodilla adquirido con SE-EPI. El TR es de 676 ms, el TE de 23 y se ha aplicado un porcentaje de scan y un FOV rectangular del 80%. El tiempo de adquisición es de 2:28 min. El contraste es similar a SE T1.

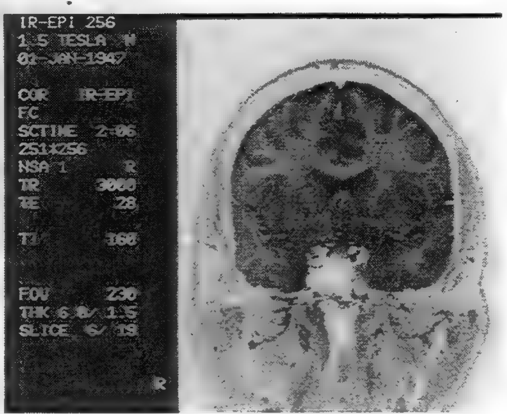
Se ha utilizado una bobina de cuadratura de rodilla.



Adquisición *dual-echo*. En esta modalidad se adquieren dos trenes de ecos a partir de un eco de espín con TE corto y otro con TE largo (igual que en SE o TSE), potenciando la primera imagen en DP y la segunda en T2.

En el ejemplo se ha utilizado un factor EPI (EF) de 5. El tiempo de adquisición de 14 cortes es de 3:35 s.





La magnetización puede prepararse, por ejemplo con un pulso de inversión de 180º como en IR. En este caso se denomina IR-EPI.

En este ejemplo de IR-EPI ha aplicado un TI de 160 ms. El tiempo de adquisición es de 2:06 min.

La reconstrucción es real (fondo claro). Debido al TI corto, no hay ningún tejido que tenga más señal que el fondo.

Parte VII

Aplicaciones de EPI

- **Reducción del tiempo de exploración**
- **Reducción de artefactos por movimiento**
- **Movimiento cardíaco en tiempo real**
- **Angiografía** (mínimo desfase de flujo)
- **Imágenes pulmonares**
- **Cerebro:**
  - Perfusión, difusión, activación cortical, imágenes funcionales
- **Abdomen y tórax:**
  - No necesario sincronismo, respiración mantenida
  - No artefactos por movimiento

Las aplicaciones de EPI se derivan de la mayor velocidad de adquisición. Las indicaciones principales quedan reflejadas en la tabla.

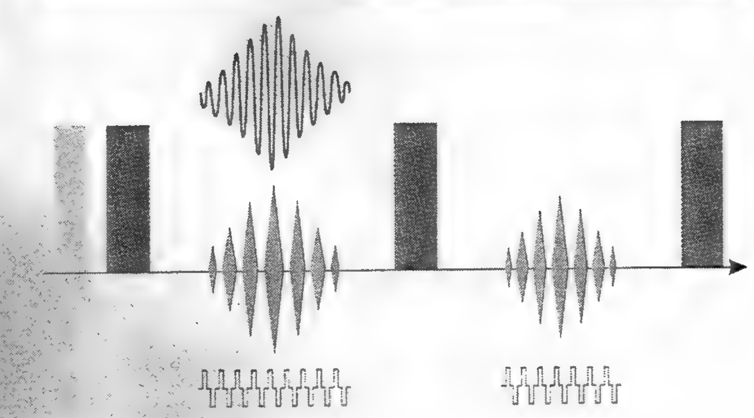
En las exploraciones de cuerpo, se utiliza la modalidad segmentada, por lo que los tiempos son mayores. Para los estudios cerebrales en los que es necesario adquirir las imágenes muy rápidamente aun a costa de una menor resolución, se aplica la técnica SS.

Secuencia GraSE - *Gradient and Spin Echo*

- Combinación de Turbo SE y EPI
- Múltiples SE (factor turbo)
  - Ecos por pulsos de 180º
- En cada SE varios ecos de gradiente (factor EPI)
  - Ecos producidos por gradientes
- Es una técnica SE, no EG

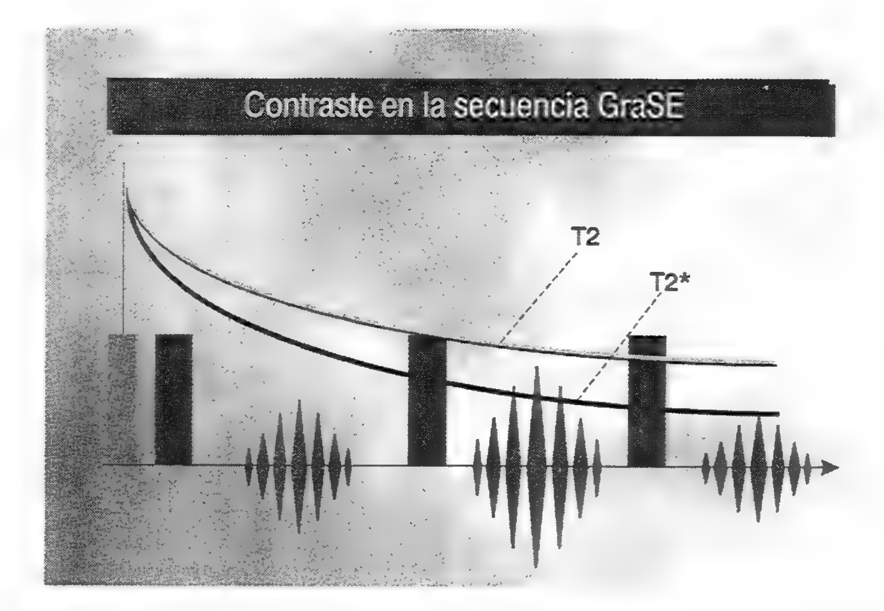
Otra secuencia que se basa en un principio similar es la denominada TGSE *(Turbo Gradient Spin Echo)* o más comunmente GraSE *(Gradient and Spin-echo)*. Se trata de una secuencia híbrida entre TSE y EPI, en la que se aprovecha la velocidad de la segunda y la calidad de imagen de la primera.

Estrategia en la secuencia GraSE



El diagrama temporal muestra la estrategia de la secuencia GraSE: Se adquieren múltiples ecos de espín (como en TSE) y un pequeño número de ecos de gradiente por cada eco de espín. El espacio entre los pulsos de 180º es mayor que en TSE. La "descomposición" de los ecos de espín en múltiples ecos de gradiente se realiza, como en EPI, con gradientes de lectura rápidos oscilantes. Con estos ecos, que reciben distintas codificaciones de fase, se rellenan múltiples líneas del espacio K.

El número de pulsos de 180º es el factor turbo (FT), y el número de ecos de gradiente es el factor EPI (EF). La velocidad de la secuencia está en relación directa al factor turbo y al factor EPI.



El contrastre en GraSE se obtiene de manera similar a TSE. Es importante reseñar que predomina el contraste T2 (de los ecos de espín) representado por la curva amarilla, sobre el contraste T2* de los ecos de gradiente, representado por la curva negra. El FE suele variar entre 3 y 7.

Aportes de TSE y EPI en GraSE

Ventajas de TSE → **GraSE** ← **Ventajas de TSE**

Calidad de imagen
Rapidez
RE (Primeras imágenes con matriz 1024x1024)

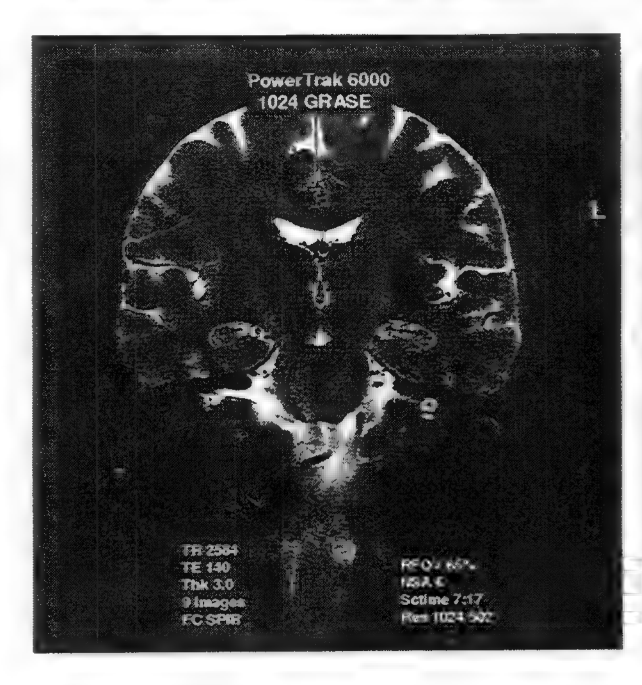
Rapidez

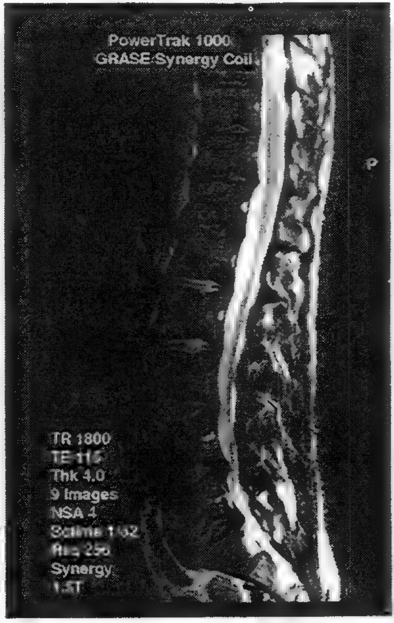
Menor efecto MTC (TSE)
Contraste T2
Combinación: IR, STIR, *Mixed*
Multicorte, corte a corte, 3D
Menos pulsos de RF (menor absorción de energía)

La secuencia GraSe aprovecha las ventajas de TSE y las de EPI. De la primera aporta la calidad de imagen, la rapidez por el FT y la resolución, así como un contraste T2. De la segunda, preferentemente, la rapidez. La aplicación de menos pulsos de refase que en TSE, disminuye el efecto MTC con una menor pérdida de señal de algunas estructuras y la disminución del efecto por acoplamiento J, por lo que en las imágenes T2 la grasa no brilla como en TSE.

Con esta secuencia se obtienen imágenes de alta resolución, siendo la secuencia que se utilizó para la obtención de las primeras imágenes con matrices de 1024x1024.

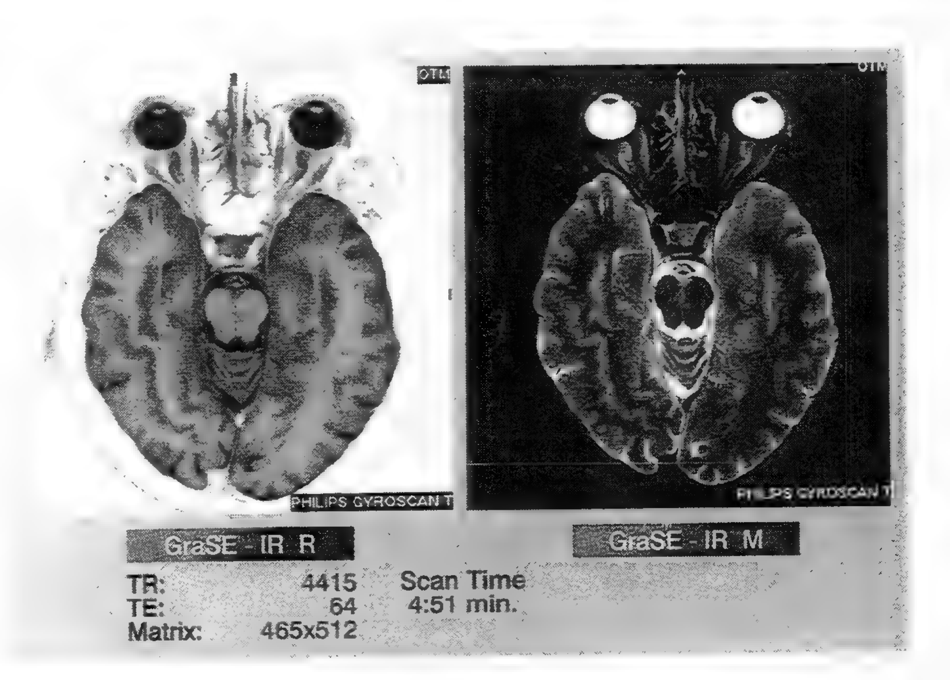
En GraSE se puede utilizar la técnica SS o *multi-shot*, en 2D o 3D.



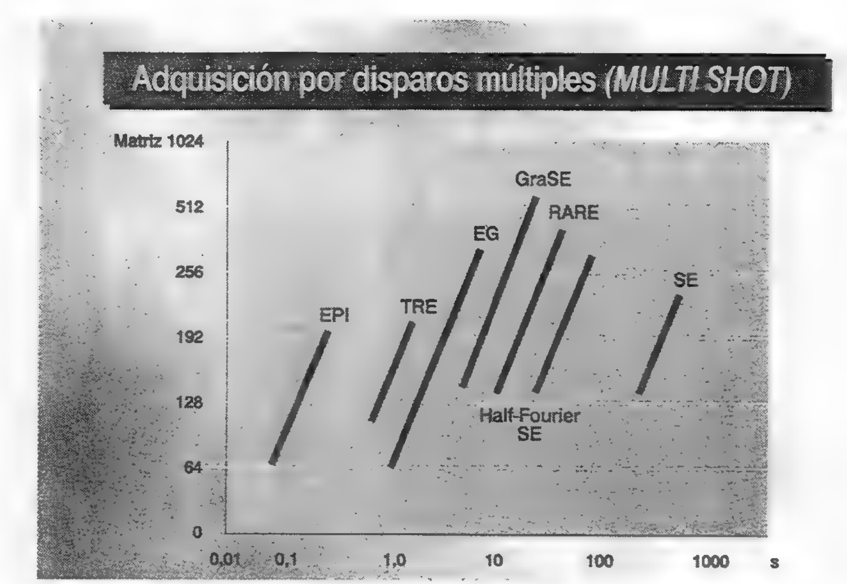


Imágenes GraSE. A la izquierda se muestra un corte coronal del cerebro, potenciado en T2, con una matriz de 1024x1024 con un tiempo de adquisición de 7:17 min. Se ha aplicado un porcentaje de escán (502x1024), un FOV rectangular (65%), y una presaturación de la grasa.

A la derecha corte coronal de la columna lumbar en 1:52 min.



Imágenes IR-GraSE con matriz de 512 y reconstrucciones real y modular. El TI corto (no reseñado en las imágenes) anula la señal de la grasa. El TR es largo como en todas las secuencias IR. El tiempo de adquisición es de 4:51 min.

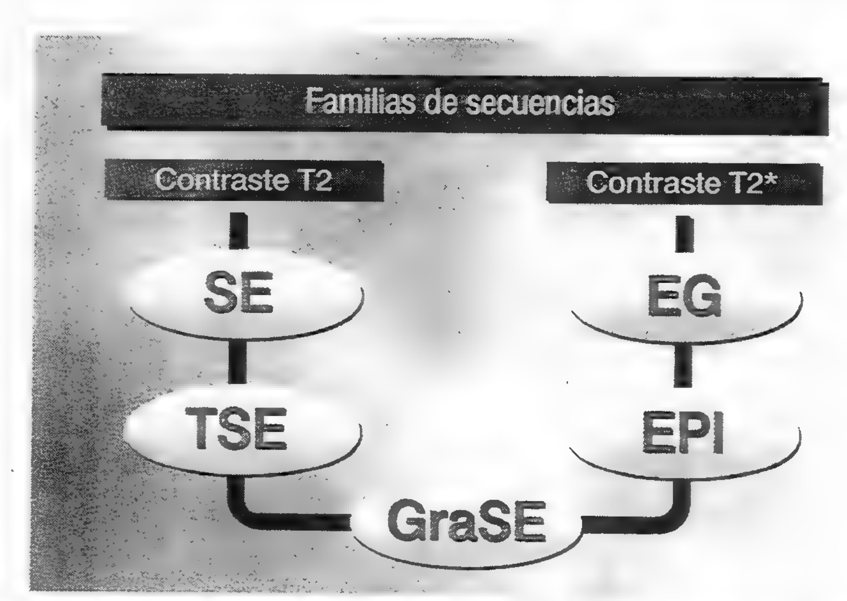


En este esquema aproximativo se pueden observar las diferentes secuencias y su relación con la resolución (eje vertical) y el tiempo de adquisición en segundos (eje horizontal).

La secuencia más rápida pero con una menor resolución es *EPI*. La más lenta es *SE*.

Con las que se alcanza una resolución mayor es con *TSE* y *GrasE*.

La elección de la secuencia apropiada en cada caso clínico depende de múltiples factores, como la disponibilidad técnica (*software* y *hardware*), las características de cada secuencia en cuanto a contraste, rapidez, etc y naturalmente, a la experiencia del operador. Finalmente, existe un factor absolutamente subjetivo como es en cada operador, la confianza en determinadas secuencias sobre otras.



En resumen, y para finalizar, hay que recordar que existen dos familias de secuencias, que se clasifican segúa el contraste T2 o T2*. La secuencia "madre" del primer grupo es *SE*, de la cual deriva *TSE*.

En el grupo T2* esta el amplísimo grupo de las secuencias de eco de gradiente *(FLASH, GRASS, TFE, FSPGR, FISP, PSIF, true FISP, FFE, CISS, FAST, CE-FAST, CE-GRASS*, etc.). A este grupo corresponde una variante pura como es *EPI*.

La secuencia *TGSE o GraSE* es híbrida, siendo una mezcla de *TSE* y de *EPI*.

Como habrá observado el lector a lo largo de este capítulo se han descrito las secuencias fundamentales y sus variantes. Sería imposible en una publicación de estas características describir todas las secuencias de eco de gradiente.

BIOSPEC Applications: Pharmaceutical Research

M. Rudin, Sandoz AG, Basel

The development of a new medication, beginning with initial ideas and ending with final production, often passes through a stage of pre-clinical research involving MR tomography or in-vivo spectroscopy. Individual animals can be observed over a longer time and need not be sacrificed at various time points. This eliminates individual variability as a significant source of errors. In addition, more complete and dependable information on the living organism is obtained than by histological methods.

Thus, in-vivo NMR contributes greatly to an improved efficiency of animal experiments.

The Sandoz AG, Basel has been successfully using a BIOSPEC BMT 47/15 system for some time. In the experiment presented here an infarction in a rat brain is generated and then treated with the dihydropyridine calcium antagonist PN 200–100.

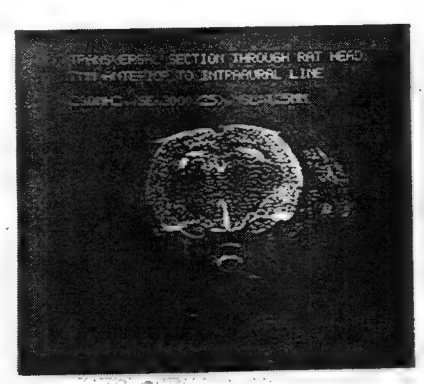


Fig. 1:
Normal rat brain, transverse slice, 7 mm, in front of the intraaural line.

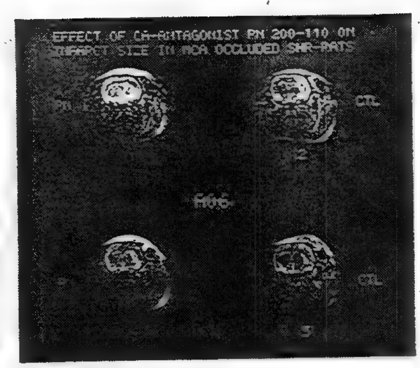


Fig. 2:
Induced infarction of the rat brain before (right) and after (left) treatment with PN 200–110.

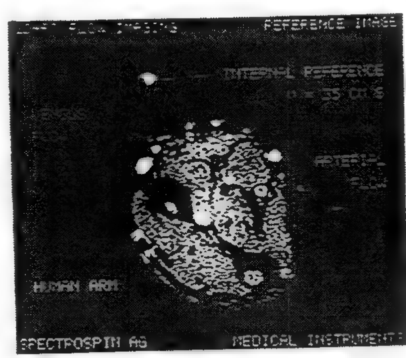
Fig. 1 shows a MR tomogram (transverse slice) of a normal rat brain 7 mm in front of the intra-aural line. In Fig. 2 a brain infarction before (right) and after (left) treatment can be seen.

Quantitative analysis of the tomogram indicates a 40–50 % reduction of the infarction region after treatment. As control a histological examination was performed which completely confirmed the MR results.

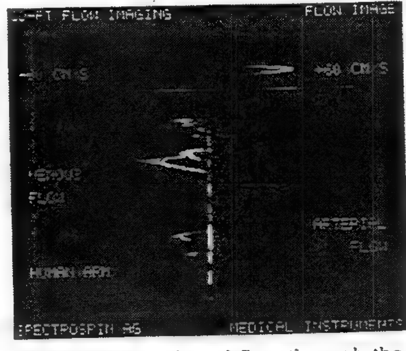
In-vivo Studies of Flow

One of the most difficult in-vivo experiment is the measurement of blood flow within blood vessels. Methods for studying the circulatory system are of great interest for clinical medicine as well as for preclinical research in the pharmaceutical industry. Thus, the depiction of vessels and a quantitative measurement of blood flow is one of our central development projects, and software routines for flow studies are already integrated into the BIOSPEC system.

The figures show an example of a pseudo 3-D flow experiment. The cross-section of interest (here a forearm) is presented in a plane, and in the third orthogonal dimension projections of the flow profiles for individual vessels can be observed. The MR tomogram of the arm is obtained with a T_1-weighted fast imaging technique, which makes all vessels clearly visible. The vessel size, flow profile, flow velocity and direction are easily visualized in the graphic presentation. The total acquisition time for the image with flow profile is just 40 sec.



Cross-section of the forearm near the wrist, obtained with a T_1-weighted fast imaging technique. The white spot is from a flow velocity reference.



Flow profile for blood flow through the chosen cross-section. The vertical axis is a spatial dimension; the horizontal axis gives the flow velocity.

BIOSPEC Applications: Volume Selected In-vivo Spectroscopy

One of the most important goals of in-vivo spectroscopy is the observation of high-resolution NMR spectra from specific, accurately defined regions of a living organism. For internal organs the widely used method of volume selection via surface coils is of limited use.

ISIS is a subtraction technique that employs selective RF pulses in the presence of magnetic field gradients to produce localization (1), which is independent of RF pulse length. The technique may consequently be used with a transmitter coil having an inhomogeneous RF field e.g. a surface coil. ISIS produces spectra free of T_2-weighting of the different resonances, since an echo is not required as part of the sequence. Figure 1 shows ISIS spectra from the human leg.

DIGGER is a new method for volume selection proposed by Doddrell et al. (2)

In contrast to all other VSE methods

- only the spins outside the volume of interest are influenced during the preparation period
- the excitation of the interesting spins is achieved by a single 90° pulse.

This strategy avoids disturbances in volume selection caused by T_2 effects and minimizes dynamic range problems in the receiver, since only the signals of interest are being detected.

To carry out the DIGGER experiment one needs appropriate pulses that excite spins in a broad "off-resonance" region and do not influence spins in the "on-resonance" region.

The first experiments to illustrate volume selection were performed on a BIOSPEC BMT 24/40.

The penetration depth is defined by the coil's radius, larger coils are inherently less selective.

Electronic localization techniques involve the use of special RF and gradient pulse methods to define the selected volume of interest.

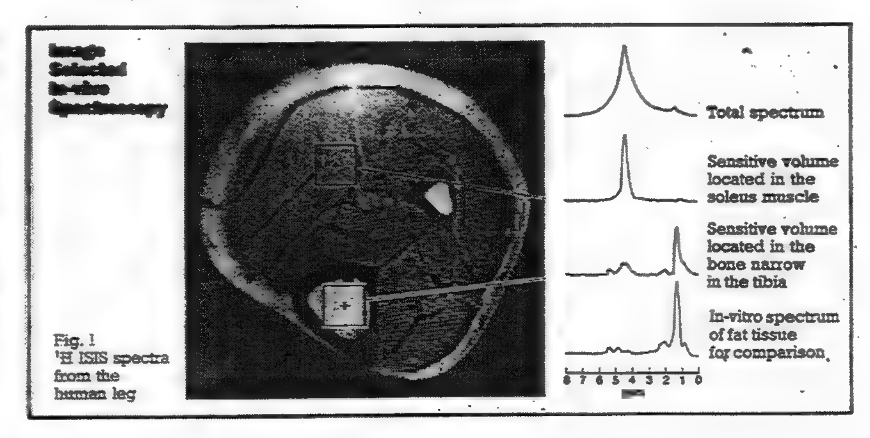


Fig. 1
^{1}H ISIS spectra from the human leg

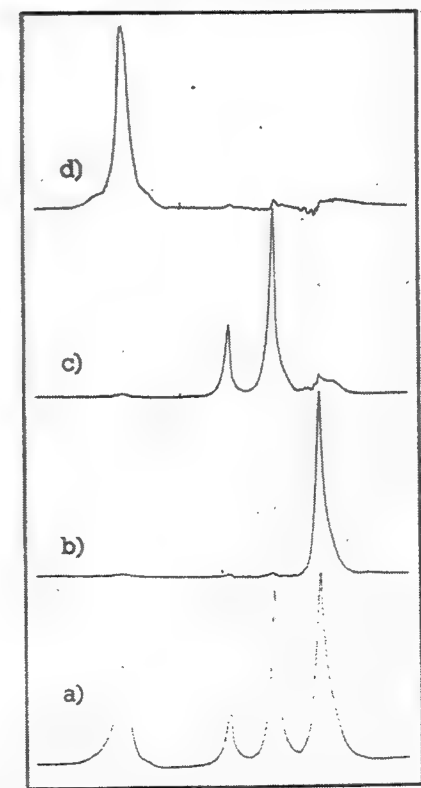


Fig. 2
DIGGER spectra

a) Normal ^{1}H spectrum obtained from three bottles containing cyclohexane, methanol and benzene.

b) the bottle containing cyclohexane,

c) the bottle containing methanol,

d) the bottle containing benzene.

Each spectrum represents the average of 8 scans obtained with a recycle time of 15 seconds.

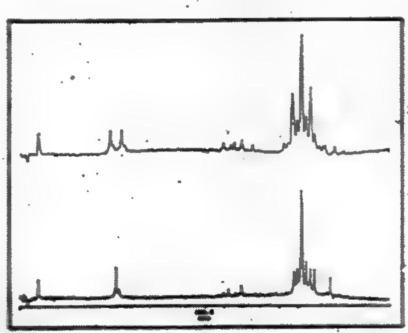
References:

1) R. J. Ordidge, A. Connelly & J. A. B. Lohman, J. Magn. Reson. 66, 283 (1986).

2) D. M. Doddrell, W. M. Brooks, G. J. Galloway, J. M. Bulsing & J. Field, to be published.

BIOSPEC Applications: In-Vivo ^{13}C-NMR Spectroscopy

The applications of in-vivo ^{13}C-NMR spectroscopy are in principle very broad and certainly very interesting when metabolic pathways and their regulation are to be studied. The large chemical shift range of the ^{13}C nucleus (~ 200 ppm) allows the differentiation of many natural metabolites. Hence, after introduction of selectively ^{13}C-enriched substrates into an organism, the compounds to which the ^{13}C-label has migrated are easily identified and even fluxes through different metabolic pathways can be determined.



^{1}H-coupled (top) and ^{1}H-decoupled ^{13}C spectra of a human forearm showing the signals from adipose tissue. Spectra were recorded within 4 minutes on a BIOSPEC 24/40 using a double-tuned surface-coil (ø 4 cm).

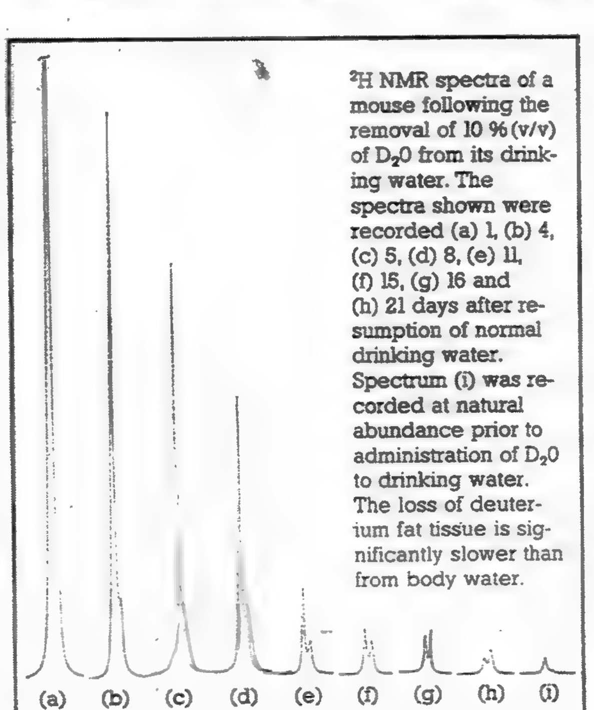
The basic problem of ^{13}C is its low sensitivity and low natural abundance (1.1 %). An efficient way to increase the sensitivity is to eliminate the splitting of the ^{13}C-lines due to interaction with attached protons using the ^{1}H-decoupling technique. Therefore, a special surface coil, double-tuned to ^{13}C and ^{1}H, has been developed which allows the recording of high sensitivity ^{13}C-spectra with ^{1}H-decoupling, without overheating of the tissue.

In-Vivo Deuterium NMR Spectroscopy

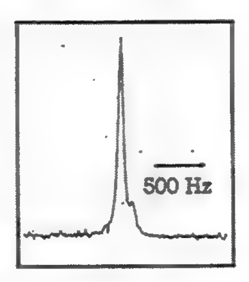
Contributed by Ian M. Brereton, Michael G. Irving, James Field and David M. Doddrell
School of Science, Griffith University, Nathan, 4111, Australia

The ^{2}H nucleus is quadrupolar with a spin quantum number (I) of 1. Its low gyromagnetic ratio and natural abundance (0.015 %) lead to a detection sensitivity of 1.45×10^{-6} relative to that of ^{1}H. However, these unfavourable properties are offset to some extent by the shorter relaxation times due to the small electric quadrupole moment of the deuterium nucleus. Thus, more rapid accumulation of signal than for ^{1}H or ^{31}P is possible, particularly in in-vivo experiments. Also, given that the total body water of animals is at least 70 % of body weight, the concentration of HOD is of the order of 12 mM.

Natural abundance deuterium NMR spectroscopy was used to characterise in-vivo ^{2}H signals arising from water and fat in mice, with acquisition times of less than two minutes. Administration of D_2O (10 % v/v) in the drinking water enhances these signals so that excellent spectra can be obtained with one scan. Using these procedures the in-vivo turnover of ^{2}H in water and fat in mice has been determined. This procedure may be of particular importance in studies of fat turnover in obesity.



^{2}H NMR spectra of a mouse following the removal of 10 % (v/v) of D_2O from its drinking water. The spectra shown were recorded (a) 1, (b) 4, (c) 5, (d) 8, (e) 11, (f) 15, (g) 16 and (h) 21 days after resumption of normal drinking water. Spectrum (i) was recorded at natural abundance prior to administration of D_2O to drinking water. The loss of deuterium fat tissue is significantly slower than from body water.



4.7 Tesla natural abundance ^{2}H NMR spectrum of the upper abdomen of a mouse. The large resonance is due to deuterium in body water, the smaller signal is due to deuterium in fat.

BIOSPEC Applications: In-vivo ^{19}F-NMR Spectroscopy

In human and animal tissues the concentration of fluorinated metabolites is normally very low (eg. fluoride ca. 5-50 µM). However, several fluorinated compounds are being used as drugs, anestetics or chemotherapy (cytostatic) agents, whereby concentrations can exceed 100 µM in plasma or tissue.

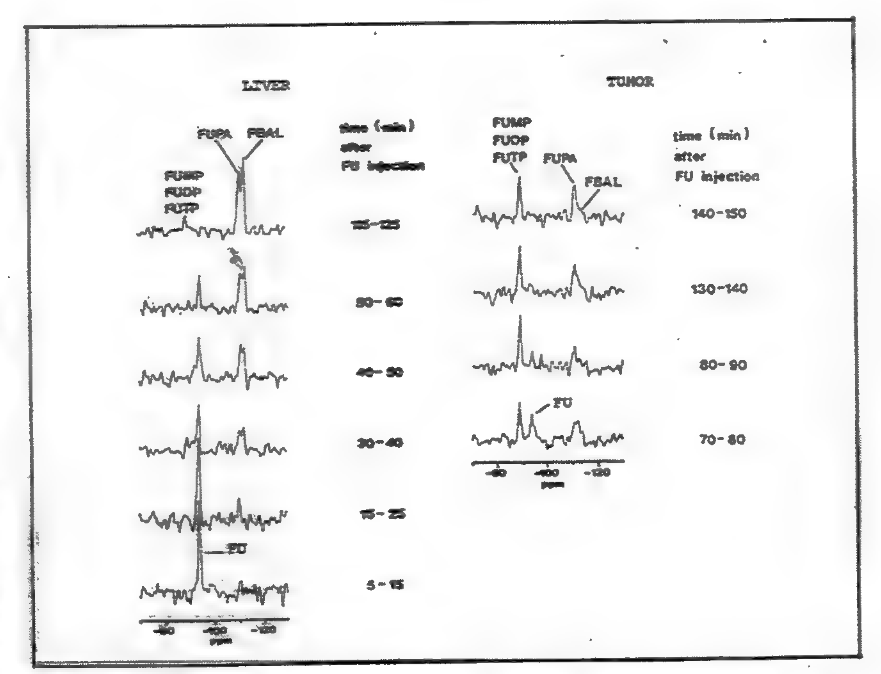
Uptake, metabolism, and elimination of such substances can be readily followed by in-vivo ^{19}F-NMR.

Drs. W. E. Hull and R. Port from the German Cancer Research Center, Heidelberg, have been using a BIOSPEC BMT 24/40 for studies of the metabolism of 5-fluorouracil (FU), a commonly used cytostatic agent, in tumor-bearing mice. A 2 cm surface coil probehead was carefully constructed so as to have a minimal ^{19}F background signal. Shimming on the water ^{1}H signal could be conveniently performed without retuning. This allowed rapid switching between examination of various regions of the mouse (eg. liver or tumor) within a single kinetic run. For 10–20 minutes data acquisition the metabolite detection limit appeared to be approx. 0.1 µmole/g.

The competition between catabolism (detoxification) and anabolism of FU in various tissues (see scheme) is important in determining the chemotherapeutic effect in tumors vs. the toxic effect in normal tissue. The experiments show that catabolism dominates in the liver but is generally slower in tumor where significant amounts of cytotoxic nucleotides are formed. Of clinical interest is the possibility of distinguishing so-called FU-resistent and FU-sensitive tumors based on their metabolism of FU in-vivo and the possibility of optimizing a chemotherapy regimen, particularly in combination with other drugs.

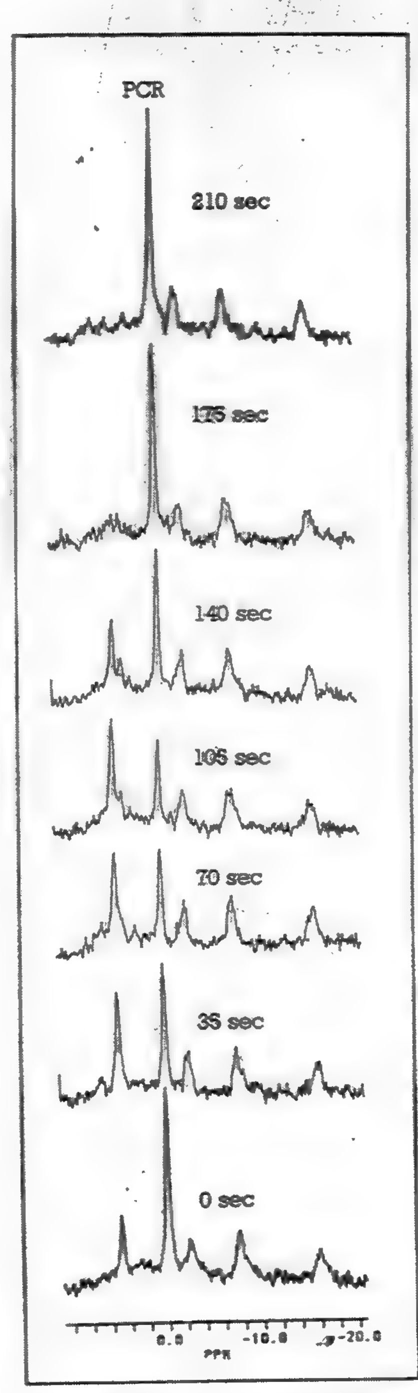
```
FUrd → FUMP → FUDP → FUTP → FU in RNA
  ↑anabolism      ↓
FU                  → FdUMP inhibits thymidylate synthetase
  ↓ catabolism
DHFU → FUPA → FBAL
```

Scheme for the detoxifying catabolism and cytotoxic anabolism of 5-fluorouracil (FU). Metabolites are
DHFU = 5,6-dihydro-FU,
FUPA = α-fluoroureidopropionic acid,
FBAL = α-fluoro-β-alanine,
FUrd = 5-fluorouridine,
FUMP = 5-fluorouridine-5'-monophosphate,
FUDP = 5-fluorouridine-5'-diphosphate,
FUTP = 5-fluorouridine-5'-triphosphate,
FdUMP = 5-fluoro-2'-deoxyuridine-5'-monophosphate.



94 MHz in-vivo ^{19}F-NMR of FU metabolism in a $B_6D_2F_1$ mouse bearing a M 5076 tumor intramuscular in a hind leg. An FU dose of 1 mmole/kg was injected intravenously (tail) 1 hour after a pretreatment with 1 mmole/kg choline orotate (i.p.). A 2 cm surface coil allowed the selective measurement of liver or tumor by simply repositioning the mouse during the time course. Each spectrum represents 10 min of data acquisition using a 1 sec repetition time and 8 µsec pulse (pulse length that gave maximum signal from a 10 mM FU reference solution with S/N ca. 20:1 for 1 transient). The in-vivo linewidths were ca. 0.3 – 0.5 ppm so that it is not possible to distinguish between the species FUMP, FUDP, FUTP.

BIOSPEC Applications: In-vivo ^{31}P-NMR Spectroscopy



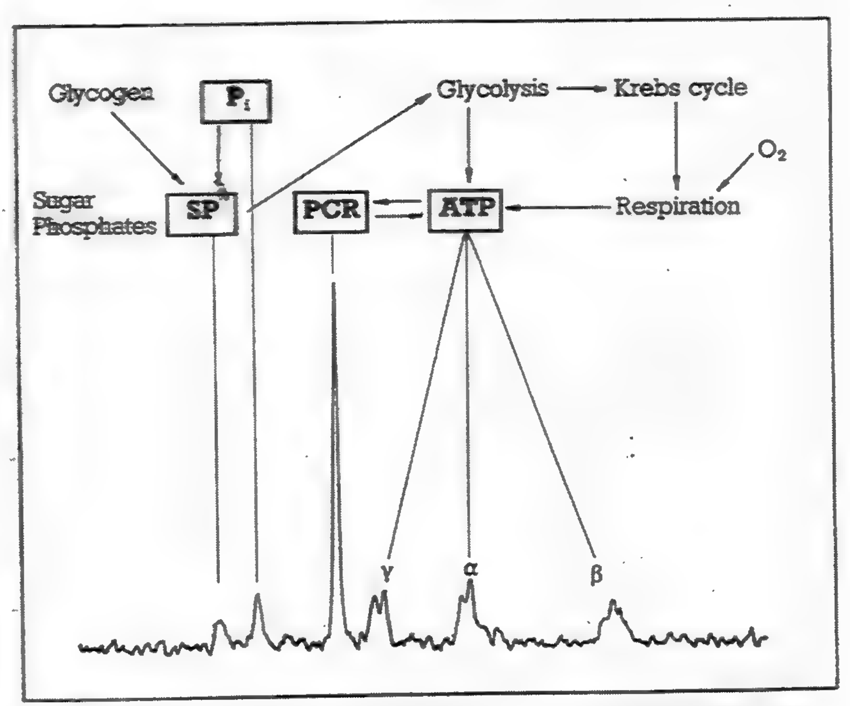
A series of ^{31}P spectra (40 MHz) from a human leg during 2 min. of ischemic exercise and 4 min. of occlusion (surface coil ø 4 cm, 30 scans per spectrum).

^{31}P in-vivo Nuclear Magnetic Resonance is becoming increasingly useful in biochemical and physiological studies of living organisms: the ability to determine non-invasively the concentrations of inorganic phosphate, phosphocreatine, sugar phosphates and ATP (among other metabolites) as well as tissue pH defines ^{31}P-NMR spectroscopy as the prime method for studying energy metabolism and its regulation. With these parameters the effects of ischemia on the energy metabolism of skeletal muscle, kidney, brain or any other organ are amenable to investigation. Also, patients with certain genetic disorders (e.g., McArdle's Disease) exhibit characteristic changes in their ^{31}P-NMR spectra.

The potential clinical and research applications in diagnosis and therapy, include control of stroke, myocardial infarction, circulatory insufficiency in extremities as well as monitoring the metabolic status of organs before and after transplantation.

^{31}P NMR as a diagnostic tool

- Muscle phosphorylase and deficiency (McArdle's disease).
- Phosphofructokinase deficiency.
- ADH coenzyme Q reductase deficiency.
- Duchenne muscular dystrophy.
- Paramyotonia congenita.
- Familiar hypokaliemic paralysis.
- Ischemic conditions.



Scheme showing the energy providing pathways in an organism and their correlation with a ^{31}P spectrum.--

C) **Aplicaciones industriales analíticas clásicas**

C1) *Industria de la alimentación*

■ ***Generalidades***

Desde 1950, después de la aparición de los primeros resultados publicados [1] acerca de la aplicación de la espectroscopía de RMN al estudio de hidratación de componentes alimentarios, la RMN como método analítico ha sido empleada con éxito a lo largo de la *industria de alimentación* tanto para la investigación como para el control de calidad [2,3]. En este apartado se pretende proporcionar una revisión generalizada de los usos más comunes de la espectroscopía de RMN en las *ciencias de la alimentación*, aunque se debe indicar que se han omitido aquellos aspectos mas dedicados a los estudios estructurales [4], en parte ya vistos en los apartados anteriores, especialmente los que emplean la espectroscopía de C13 [5-7].

■ ***Aplicaciones mas importantes de la RMN en la Industria de la Alimentación***

Prácticamente sólo se considerarán las ramas mas importantes de la industria que hacen uso extensivo de la RMN, como grasas y féculas comestibles, aunque existen otras áreas en las que la RMN ha comenzado a tener un impacto significativo.

■ *Carne y huevos*

Algunas de las publicaciones primeras [8,9] examinaban el agua adsorbida en ingredientes de productos de la carne, como colágeno, gelatina, albúmina de huevo y glicina. Desde esos primeros estudios, han aparecido muchas publicaciones que tratan de la adsorción en proteínas, y la conducta dinámica del agua adsorbida [3,10-13].

Como ya se ha descrito en el apartado anterior, la aportación de la RMN a la biología, bioquímica y biofisica ha sido y es muy importante a través de numerosas publicaciones que describen su uso para la determinación estructural y dinámica de biopolímeros [14-15].

Cuando la carne se congela, parte del agua libre o no enlazada adopta una estructura rígida, dejando a la solución restante en una forma mas concentrada. Esto da lugar a una reducción considerable en el valor de T_1, tiempo de relajación longitudinal. Un gráfico de T_1 vs. el intervalo de temperatura negativa usado, muestra dos curvas con pendientes bastante diferentes. Al principio el valor de T1 disminuye rápidamente con la reducción de la temperatura hasta que alrededor de -5 C la curva muestra un hombro, a partir del cual la dependencia de T_1 con la temperatura es bastante menos pronunciada. Se han encontrado curvas similares para muestras de hígado, pescado y manzana [16].

La carne además de agua contiene aceite. Ambos ingredientes influyen en el componente de la señal de RMN correspondiente a la fase líquida, por lo que generalmente no es factible una distinción nítida entre ambos componentes. Sin embargo, con calibrados apropiados resulta posible una rápida determinación del contenido de agua en la carne [17]. La precisión en la determinación del contenido de grasa en una carne secada al horno mediante RMN es del 0,2 al 0,3% [18,19]. Durante la preparación de las muestras, estas deben de ser calentadas a 70 C para asegurar que toda la grasa ha sido fundida y pueda ser analizada como aceite.

■ *Pescados*

Hasta fechas relativamente recientes la RMN no ha sido extensivamente utilizada en la industria de la pesca. Las aplicaciones principales han sido usadas en laboratorios, por ejemplo en el estudio de la estructura de los ácidos grasos insaturados de aceites de pescados [20]. Una de las prácticas actuales para una gran proporción de pescado es su congelación a temperaturas muy bajas, por lo que resulta conveniente limitar al mínimo la pérdida de humedad durante el proceso de descongelación. La RMN está particularmente bien dotada para el estudio de los métodos actuales de preparación y conservación del agua adsorbida en tejidos de pescados [16,21,22], incluso a temperaturas tan bajas (-70 C) se pueden establecer distinciones claras entre componentes de agua libre y enlazada.

■ *Leche y Productos lácteos*

La RMN ha encontrado muchas aplicaciones en los productos de la industria láctea. La RMN ofrece ventajas significativas sobre los métodos clásicos lentos para la medida del contenido de grasa y/o agua en la leche y sus derivados.

Como la presencia del agua interfiere con las medidas del contenido de grasa en el queso, las muestras deben de ser secadas rápidamente. De esta manera se puede realizar una determinación directa de la materia seca y el contenido de grasa, y para productos con alto contenido en agua, también se puede determinar el contenido en agua a partir de la comparación con el resultado del análisis inicial con una muestra húmeda. En los primeros años, década de los 60, la RMN de onda continua se aplicó con éxito, tal y como se demuestra por el abundante número de publicaciones. Sin embargo, la introducción de la RMN de pulso y transformadas de Fourier (RMN-TF) y su aplicación a muestras de las mismas características ha manifestado unas ventajas experimentales significativas. Por ejemplo, la RMN-TF ha sido utilizada desde mitad de los 70 con éxito para la rápida determinación del contenido en agua en leche en polvo y quesos frescos [23]. Para leches en polvo con contenidos en agua entre 1 y 5 % se puede obtener una precisión del 0,2% en la medida del agua en un periodo de 72 segundos. Para los quesos frescos con una contenido en agua del 77 a 81 % se necesita un tiempo de 10 segundos para alcanzar una precisión en la medida de 0,3% [24,25].

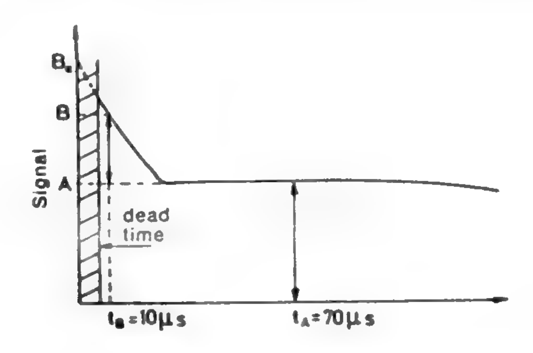
La naturaleza y la velocidad de disolución de leches en polvo y desnatadas puede ser elegantemente estudiada mediante RMN. La RMN como técnica analítica proporciona una clara indicación del procedimiento de reconstitución mejor de todos los métodos conocidos de producción [26]. También se ha demostrado que la RMN puede ser utilizada en la determinación del valor de iodo de una manera muy rápida, y de esta manera proporcionar un método veloz para el control del grado de insaturación de los triglicéridos [27]. En comparación con el método clásico de Wijs, la RMN es una forma no sólo mas rápida si no menos proclive al error. Además, la RMN provee un medio para determinar el valor molar promedio de los triglicéridos en la grasa de mantequilla.

La naturaleza de los ácidos grasos insaturados en la grasa de mantequilla depende del tipo de la alimentación del ganado [28]. Las variaciones anuales en la textura de la mantequilla son muy notables, por ejemplo, en invierno los productos son mas duros y quebradizos que en verano en los que el contenido de ácidos grasos insaturados es mayor. Sin embargo en la producción de mantequilla la "ductilidad" puede determinarse por métodos de cristalización apropiados en donde el tiempo - intervalo de temperaturas - se controla de manera precisa durante la producción. Esto se logra en la práctica a través del control de la relación de la grasa cristalizada y la líquida, en la bibliografía hay ejemplo de estudio del contenido en sólido de grasa [29-34], desarrollados específicamente para la industria de grasas comestibles.

■ *Grasa y aceites comestibles, semillas de aceite*

Las grasas y aceites están constituidos por una mezcla de triglicéridos de distintos ácidos grasos. Los triglicéridos pueden cristalizar en diferentes tipos de cristales (polimorfismo), que poseen puntos de fusión bastante diferentes dependiendo del tipo de aceite. Por consiguiente la consistencia de las grasas y aceites depende críticamente de la temperatura, y sólo puede ser controlada satisfactoriamente por un método analítico adecuado como la RMN. Aunque el parámetro mas importante del contenido en sólidos de grasas puede determinarse mediante *dilatometría, análisis térmico diferencial* o *calorimetría diferencial de barrido*, se puede medir mas rápidamente por RMN.

Resulta factible determinar, como se verá mas detalladamente después, el contenido en agua en margarinas mediante RMN. Sin embargo, como los tiempos de relajación del agua y aceite no difieren mucho ($T_1(H_2O)$ = 1 s, T_1(aceite) = 200 ms) resulta necesario "dopar" el agua con iones paramagnéticos (p.e. cobre o magnesio) tal que el tiempo de relajación del agua disminuye hasta 1 ms lográndose así una diferencia suficientemente grande con el del aceite. La RMN también se ha utilizado para la selección de emulsificantes adecuados para emulsiones de aceite/agua [35,36].



Forma del FID para la determinación de la relación sólido liquido. La adecuada extrapolación permite la determinación de la amplitud de B_o a partir de B. Por lo que la relación sólido/liquido se puede determinar a partir de las medidas de la amplitud a los tiempos t_B y t_A.

Una aplicación importante de la RMN para un futuro inmediato es la sustitución de los métodos actuales de extracción para la determinación del contenido de grasa en semillas. El contenido en grasas de semillas se puede medir en minutos sin necesidad de utilizar disolventes inflamables o destruyendo los especímenes [37,38]. Otros trabajos han mostrado que ya que la metodología de RMN es rápida y no destruye la germinación en la semilla, por lo que resulta posible la selección de aquellas semillas vivas con capacidad de producir un conjunto de semillas de alto contenido en aceite.

■ *Maíz, Cereales, Fécula, Azúcar*

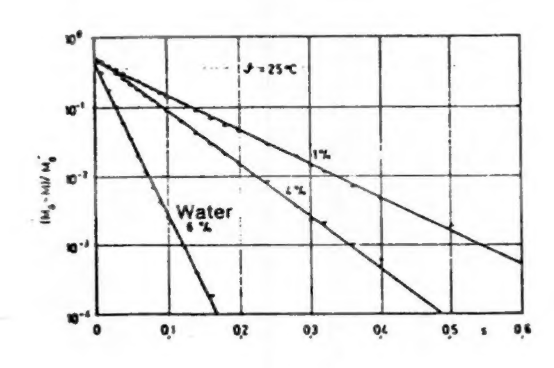
La RMN se ha empleado con éxito para determinar el contenido en agua en aquellos productos alimenticios ricos en carbohidratos [39,40], y para estudiar el agua enlazada [41,42] y los procesos de disolución [43,44]. Además, la espectroscopía de C13 ha ayudado en los estudios de estructura molecular [45]. También resulta relativamente directa la determinación del contenido de agua en alimentos bajos o libres de grasa, tales como almidón, harina, azúcar y carnes dulces [39,40]. No obstante resulta raro el caso en el que se observe una correlación lineal entre la intensidad de la señal de RMN y el contenido de agua en un amplio intervalo de valores de contenido de agua. Esta

observación se puede justificar por la presencia de agua enlazada incluida en el conjunto global del contenido de agua. Sin embargo resulta particularmente fácil estudiar el agua enlazada mediante RMN. Además los estudios realizados a temperaturas próximas al punto de congelación pueden indicar que parte del agua no congela [41,42,46,47]. Asimismo los procesos de disolución y gelificación de almidón se pueden estudiar por métodos de RMN.

■ *Cacao, Chocolate, Café*

La presencia de pequeñas partículas de hierro procedentes de los procesos de refinado del caco líquido pueden alcanzar valores de hasta varios centenares ppm. Lo que puede ensanchar las líneas de resonancia, aunque no impide la determinación precisa del análisis del contenido de grasa mediante RMN. De tal manera, el contenido de grasa en muestras de caco y chocolate se pueden medir en pocos minutos con una precisión del 0,2% [48].

En el café crudo, tanto el agua como la grasa (aceite de café) están presentes en cantidades apreciables. Utilizando procedimientos y secuencias de pulso adecuados se ha podido llevar a cabo la determinación directa del contenido en agua y aceite [49]. Además, como consecuencia del rápido tiempo de medida resulta factible el control del proceso de tostado hasta un alto grado.



Determinación del contenido en agua a partir de las relajaciones longitudinales observadas. El ejemplo muestra la dependencia de T_1 de la concentración de agua en concentrados de café [49].

■ *Misceláneas*

Asimismo la RMN parece ofrecer ventajas sobre la picnometría en la determinación del contenido de alcohol en vino, cerveza y licores. Mediante la integración del pico del grupo metilo antes y después de la adición de una cantidad conocida de alcohol, se puede determinar el contendio alcohólico en un intervalo del 0 al 80% con una precisión del 35 en un periodo de 5 a 10 minutos [50].

■ **Bibliografía**

1.- T.M. Shaw y R.H. Elsken, **J. Chem. Phys.**, 8 1113 (1950).

2.- R. Khon, **Fette, Seiten, Anstrichmittel**, 68, Nr. 10, S, 795 (1966).

3.- H. Weisser, **Lebensmittel-Technologie und –Verfahrenstchnik**, 28, Nr. 3, S, 97 (1977).

4.- A.K. Foltz, J.A. Yeransian y K.G. Sloman, **Analytical Chem.**, 49, Nr.5, S, 194 R/220R (1977).

5.- E.J. Vicent, **Rev. Francaise des Corps Gras**, 21, No. 12, 699 (1974).

6.- J. Bus, I. Sies y M.S.F. Lie Ken Jie, **Chem. Phys. Lipids**, 18, 130/44 (1977).

7.- E. Yu. Shapiro, A.V. Viktorov, V.I. Volkova y otros, **Chem. Phys Lipids**, 14, 227/32 (1975).
8.- T.M. Shaw y K.J. Palmer, **Phys. Rev.**, 83, 213 (1951).
9.- T.M. Shaw y R.H. Elsken, **J. Chem. Phys.**, 21, 565/66 (1953).
10.- H.J. Berendsen, **J. Chem. Phys.**, 36, 3297/3305 (1962).
11.- L.A. Abezedarskaya y otros, **Molecular Biology (New York) Vol. 1**, Nr. 4, 381 (1967).
12.- R. Kimmich y F. Noack, **Z. Naturforsch. 25 a.**, Nr.11, S, 1680/84 (1970).
13.- Th. L. James y K.T. Gillen, **Biochem. Biophys. Acta**, 286, 10 (1972).
14.- G.G. McDonald y J.M. Vanderkooi, **Biochem.**, 14, 2125 (1975).
15.- K. Wuthrich, **New York: John Wiley & Sons**, (1986)
16.- V.M. Chernyshev y otros, **Cholodiln. Techn.**, No. 4, 30 (1974).
17.- R.K. Steffa y otros, **Food Res.**, 24, 210 (1959).
18.- J.C. Casey y C.A. Miles, **J. Sci. Food Agric.**, 25, 1151 (1974).
19.- R. Nilsson y K. Kolar, **Livsmedelsteknik**, 16, No. 6, 258 (1974).
20.- T. Hashimoto y otros, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 40, 124 (1963).
21.- M.V. Sussman y L. Chin, **Science**, 151, 324 (1966).
22.- T. Suzuki y M. Takeuchi, **J. of Food Sci. And Technol. (Japan)**, 17, 110 (1970).
23.- P. Kern, R. Sieber y P. Rust, **Schweizerische Milchwirtshaftl. Forschung**, 3 Nr. 1, 6 (1974).
24.- K.J. Palmer y R.H. Elsken, **J. Agr. Food Chem.**, 4, 165 (1956).
25.- N.J. Berridge, E. Crean y P.B. Mansfield, **J. Dairy Res**, 37, 407 (1970).
26.- E.G. Samuelsson y B. Hueg, **Milchwissenschaft**, 28, Nr. 6, S, 329 (1973).
27.- L.V. Nielsen, **Milchwissenschaft**, 31, Nr. 10, S, 598 (1976).
28.- F.W. Wood, M.F. Murphy y W.L. Dunkley, **J. Dairy Sci.**, 58, 839 (1975).
29.- E.G. Samuelsson y J. Vikelsoe, **Milchwissenschaft**, 26, Nr. 10, S, 621 (1971).
30.- A.F. Babkin y otros, **Pitschew. Technolog.**, No. 6, 130 (1976).
31.- W.L. Makarenko y otros, **Pitschew. Technolog.**, No. 1, 72 (1975).
32.- V. Merilainen y A. Antila, **Meijeritieteellinen Alkakauskirja**, 34, 117 (1976).
33.- H. Jonsson y K. Andersson, **Milchwissenschaft**, 31, Nr. 10, S, 593 (1976).
34.- D. Chapman, R.E. Richards y R.W. Yorke, **Nature**, 183, 44 (1959).
35.- S. Shanbhag, M.P. Steinberg y A.I. Nelson, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 48, 11 (1971).
36.- J. Trumbetasa, J.A. Fioriti y R.S. Sims, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 53, 722 (1976).
37.- E. Madsen, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 53, 467 (1976).
38.- P.N. Tiwari, P.N. Gambhir y T.S. Rajan, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 51, 104 (1974).
39.- W.D. Pohle y R.L. Gregory, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 45, 775 (1968).
40.- W.L. Rollwitz y G.A. Persyn, **J. Am. Oil. Chem. Soc.**, 48, 59 (1971).
41.- Y. Ogiwara y otros, **J. of Applied Polymer Science**, 14, 303 (1970)
42.- H.K. Leung, M.F. Steinberg, L.S. Wei y A.I. Nelson, **J. Food Sci.**, 41, 297 (1976).
43.- E.I. Fedin y otros, **Carbohydrate Research**, 39, S, 193 (1975).
44.- H.J. Hennig, **Stärke**, 29, Nr. 1, S, 1 (1977).
45.- W. Voelter, V. Bilik y E. Breitmaier, **Coll. Czechoslov. Chem. Commun.**, 38, s, 2054 (1973).
46.- N.A. Golovkin, I.P. Birjukow y A.F. Babkin, **Pistschew. Technol.**, No. 2, 160 (1972).
47.- V.V. Mank y otros, **Pistschew. Technol.**, No. 1, 41 (1975).
48.- J. McCarten, **Prospekt der Fa. Bruker Physik**.
49.- R. Messer, **Diplomarbeit Universität Karlsruhe** (1977).
50.- U. Anders, F. Tittgemeier y G. Hailer, **Z. Lebensm. Unters.-Forschung**, 162, Nr. 1, S, 21 (1976).